

N° d'ordre : 11/2004 – M / S.N.

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE « HOUARI BOUMEDIENNE »

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES

THESE

Présentée pour l'obtention du diplôme de : Magister

En : SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Microbiologie des Sols

Par : MEKKAOUI ALI

THEME :

Influence de l'apport de la matière organique végétale

(Vicia faba), sur l'évolution des micro-organismes

Dans le sol

Soutenue publiquement le 07 juillet 2004, Devant le jury composé de :

Mme NEDJRAOUI D.	Professeur USTHB/FSB	Présidente
Mme KADI-HANIFI H.	Professeur USTHB/FSB	Directrice de thèse
M. HACENE H.	Professeur USTHB/FSB	Examineur
M. BOUZENAD Z.	Professeur INA/El Harrach	Examineur
M. KACI Y.	Chargé de cours USTHB/FSB	Examineur

Avant propos

Avant de présenter ce travail qui, à été réalisé au laboratoire de Biologie des Sols, Faculté des Sciences Biologiques ; il m'est agréable d'adresser mes sincères remerciements à toutes les personnes qui, de près ou de loin et de diverses façons, m'ont apporté leur aide et leur soutien.

Madame Nadjraoui D. Professeur à l'U.S.T.H.B. d'avoir accepté de présider le jury de soutenance

Madame Kadi Hanifi H. Professeur à l'U.S.T.H.B. qui n'a ménagé aucun effort pour me venir en aide et résoudre les difficultés que j'ai rencontré.

Monsieur Hacène H. Professeur à l'U.S.T.H.B. qui a bien voulu examiner ce travail, qu'il reçoit ici l'expression de ma profonde gratitude.

Monsieur Bouzenad Z. Professeur à l'I.N.A. El Harrach d'avoir aimablement accepté d'être membre examinateur qu'il soit fortement remercié

Monsieur Kaci Y. Chargé de cours à l'U.S.T.H.B. pour son accord de faire partie du jury.

Enfin à toute l'équipe de Biologie des Sols, avec qui j'ai passé des moments d'ambiance inoubliables je leur dis aussi merci.

Table des matières

Introduction générale.....	1
1. Généralité.....	2
1.1. <u>Le sol</u>	2
1.1.1. Notion de fertilité.....	2
1.1.2. La fertilisation.....	3
1.1.3. Les matières fertilisantes.....	3
1.1.3.1. Les amendements organiques.....	3
a) Fumier de ferme.....	4
b) Le purin.....	4
c) Le lisier.....	4
d) Les résidus de récolte.....	4
e) La prairie.....	4
f) Les composts.....	5
g) Les engrais verts.....	5
h) Répartition écologique de la matière organique.....	5
i) Rendement en humus des matières organiques enfouies.....	5
j) Action sur les propriétés chimiques.....	6
1.1.3.2. Les amendements minéraux.....	6
a) Principaux effets des amendements minéraux.....	6
b) Effets sur les propriétés biologiques.....	7
c) Appauvrissement du sol en éléments minéraux.....	7
1.2. <u>Microbiologie du sol</u>	8
1.2.1. Les Bactéries.....	8
1.2.1.1. Nutrition.....	8
1.2.1.2. Principaux groupes de bactéries du sol.....	8
a) Les Eubactéries.....	8
b) Les Actinomycètes ou Eubactéries ramifiées.....	8
c) Les Myxomycètes.....	9
d) Les Bacteroïdes Flavébactéries et organismes apparentés.....	9
e) Les Archéobactéries.....	9
f) Exigences écologiques.....	9
1.2.2. Les Champignons.....	10
1.2.2.1. Nutrition.....	10
1.2.2.2. Caractères spécifiques des Champignons et répartition dans le sol.....	11
a) Cellulolytiques.....	11
b) Ligninolytiques.....	11
c) Pectinolytiques.....	11
d) Exigences écologiques.....	11
1.2.3. Rôle et activité des micro-organismes.....	12
1.2.3.1. Transfert d'énergie.....	12
1.2.3.2. Facteurs régissant l'activité microbienne dans les sols.....	12
1.2.4. Les enzymes du sol.....	12

1.2.4.1. Rôle des enzymes dans les sols.....	13
1.2.4.2. Principaux enzymes mises en évidence dans les sols.....	13
a). Oxydoréductases.....	13
b). Transférases.....	13
c). Hydrolases.....	13
d). Lyases.....	13
1.2.4.3. Etat des enzymes dans les sols.....	13
a). Les enzymes libres.....	13
b). Les enzymes adsorbés par les colloïdes du sol.....	13
c). Enzymes des cellules mortes ou des fragments cellulaires.....	13
1.2.4.4. Origine microbienne des enzymes du sol.....	14
1.2.4.5. Facteurs écologiques régissant la répartition et l'activité des enzymes.....	14
a). Le pH.....	14
b). L'Humidité.....	14
c). La Végétation.....	14
d). Les Types pédologiques.....	15
e). Les Fumures et façons culturales.....	15

2. <u>Matériel et Méthodes</u>	16
2.1. Choix du sol.....	16
2.2. Echantillonnage.....	16
2.3. Le matériel végétal.....	16
2.3.1. Choix du matériel végétal.....	16
2.3.2. Préparation du matériel végétal.....	16
2.4. Analyse Physico-chimiques du sol.....	16
2.4.1. Evaluation de la matière organique.....	17
2.4.2. Dosage de l'azote.....	17
2.4.3. Composés organiques carbonés.....	17
2.4.4. Détermination du pH.....	17
2.4.5. Analyses microbiologiques.....	17
2.4.5.1. Préparation des suspensions dilutions.....	17
2.4.5.2. Microflore totale.....	17
2.4.5.3. Groupement fonctionnel du cycle du carbone.....	18
2.5. Isolement des bactéries cellulolytiques et étude de leur activité.....	18
2.5.1. Isolement et sélection.....	18
2.5.2. Premier screening : Dosage des sucres réducteurs.....	18
2.5.3. Deuxième screening : culture des souches sur du phénol et de l'acide cinnamique.....	18
2.5.4. Effet de la dose du Phénol et de l'acide cinnamique.....	19
2.5.5. Etude de l'activité enzymatique : « cellulolyse ».....	19
2.5.5.1. Extractions des enzymes cellulolytiques.....	19
2.5.5.2. Activité sur substrats commerciaux.....	19
2.5.5.3. Activité sur substrat végétal (<i>in vitro</i>).....	20
2.5.5.4. Inoculation et incubation.....	20
2.5.6. Caractérisation des souches sélectionnées.....	20

3. Résultats.....	21
3.1. Résultats physico-chimiques.....	21
3.1.1. Minéralisation du carbone.....	21
3.1.1.1. Matière organique de l'incinération.....	21
3.1.1.2. Activités respiratoire.....	21
- Aérobiose.....	21
- Anaérobiose.....	21
3.1.2. Minéralisation de l'azote.....	22
3.1.2.1. Taux de minéralisation de l'azote.....	23
3.1.3. Rapport C/N.....	23
3.1.4. Evolution des sucres.....	24
3.1.5. Evolution du pH.....	24
3.1.6. Humification et minéralisation secondaire.....	25
3.1.6.1. Production d'acides humiques.....	25
3.1.6.2. Production d'acides fulviques.....	25
3.2. Microflore.....	27
3.2.1. Bactéries totales.....	27
3.2.2. Champignons totaux.....	27
3.2.3. Bactéries du cycle du carbone.....	28
3.2.3.1. Bactéries cellulolytiques aérobies.....	28
3.2.3.2. Bactéries cellulolytiques anaérobies.....	28
3.2.3.3. Bactéries amylolytiques.....	29
3.2.3.4. Bactéries pectinolytiques.....	29
3.3. Isolement et sélection des souches cellulolytiques.....	31
3.3.1. Tolérance aux phénols et acides cinnamique.....	31
3.3.1.1. Les phénols.....	31
3.3.1.2. l'Acide cinnamique.....	31
3.4. Etude de la cellulolyse.....	32
3.4.1. Activité cellulolytique sur substrats commercialisés.....	32
3.4.2. Activité cellulolytique sur substrats végétaux.....	35
3.5. Résultats de la caractérisation.....	35
3.6. Essais d'identification.....	35
3.6.1. Les souches F8 et T11.....	36
3.6.2. La souche T13.....	36
3.6.3. La souche F9.....	36
4. Discussion et interprétation.....	37
4.1. Discussion.....	37
4.1.1. Minéralisation du carbone.....	37
4.1.1.1. Taux de minéralisation du carbone par respirométrie.....	37
4.1.1.2. Taux de minéralisation du carbone de la plante.....	38

4.1.2. Devenir de l'azote apporté par l'amendement.....	39
4.1.2.1. Comparaison intra-traitement.....	39
4.1.2.2. Comparaison inter-traitement.....	39
4.2. Interprétation.....	41
4.2.1. Evolution des Bactéries.....	42
5. Conclusion générale.....	45
6. Référence bibliographiques.....	46

Abréviations

N.	Sol nu (témoin)
F.	Sol traité par les feuilles
T.	Sol traité par les tiges
Aci. cin.	Acide cinnamique
AC.ful n.	Acides fulviques dans le sol nu
AC.ful f.	Acides fulviques dans le sol traité par les feuilles
AC.ful t.	Acides fulviques dans le sol traité par les tiges
AC.hum n.	Acides humiques dans le sol nu
AC.hum f.	Acides humiques dans le sol traité par les feuilles
AC.hum t.	Acides humiques dans le sol traité par les tiges
Ban.	Bactéries amylolytiques dans le sol nu
Baf.	Bactéries amylolytiques dans le sol traité par les feuilles
Bat.	Bactéries amylolytiques dans le sol traité par les tiges
Bca n.	Bactéries cellulolytiques aérobiques dans le sol nu
Bca f.	Bactéries cellulolytiques aérobiques dans le sol traité par les feuilles
Bca t.	Bactéries cellulolytiques aérobiques dans le sol traité par les tiges
Bcan n.	Bactéries cellulolytiques anaérobiques dans le sol nu
Bcan f.	Bactéries cellulolytiques anaérobiques dans le sol traité par les feuilles
Bcan t.	Bactéries cellulolytiques anaérobiques dans le sol traité par les tiges
Btn.	Bactérie totales dans le sol nu
Btf.	Bactérie totales dans le sol traité par les feuilles
Btt.	Bactérie totales dans le sol traité par les tiges
Bpn.	Bactéries pectinolytiques dans le sol nu
Bpt.	Bactéries pectinolytiques dans le sol traité par les feuilles
Bpt.	Bactéries pectinolytiques dans le sol traité par les tiges
Cel. Micro.	Cellulose Microcristalline
C.M.C.	Carboxy-Methyl-Cellulose
Ctn.	Champignons totaux dans le sol nu
Ctf.	Champignons totaux dans le sol traité par les feuilles
Ctt.	Champignons totaux dans le sol traité par les tiges
CsN./NsN.	Rapport C/N du sol nu
Cf./Nf.	Rapport C/N dans les feuilles
Ct./Nt.	Rapport C/N dans les tiges
Miné.M. O. N.	Minéralisation de la matière organique dans le sol nu
Miné.M. O. F.	Minéralisation de la matière organique dans le sol traité par les feuilles
Miné.M. O. T.	Minéralisation de la matière organique dans le sol traité par les tiges.

Nmin.N/NtN..... Azote minéralisé par rapport à l'azote total dans le sol nu
Nmin.F/NtF..... Azote minéralisé par rapport à l'azote total dans le sol traité par les feuilles
Nmin.T/NtT..... Azote minéralisé par rapport à l'azote total dans le sol traité par les tiges

Nsn..... Taux d'azote total dans le sol nu
Nsf..... Taux d'azote total dans le sol traité par les feuilles
Nst..... Taux d'azote total dans le sol traité par les tiges

Pap. Tab..... Papier Tabac

RaN..... Respiration aérobie dans le sol nu
RaF..... Respiration aérobie dans le sol traité par les feuilles
RaT..... Respiration aérobie dans le sol traité par les tiges

RaN..... Respiration anaérobie dans le sol nu
RanF..... Respiration anaérobie dans le sol traité par les feuilles
RanT..... Respiration anaérobie dans le sol traité par les tiges

Stn..... Sucres totaux dans le sol nu
Stf..... Sucres totaux dans le sol traité par les feuilles
Stt..... Sucres totaux dans le sol traité par les tiges

F8..... Souche N°8 isolée de l'amendement des feuilles
F9..... Souche N°9 isolée de l'amendement des feuilles
T11..... Souche N°11 isolée de l'amendement des tiges
T13..... Souche N°13 isolée de l'amendement des tiges

Introduction générale

Introduction générale

L'utilisation des engrais a permis l'amélioration des rendements en agriculture par les besoins croissants de l'alimentation humaine.

Le coût élevé de ces engrais (se répercute sur le prix de revient, le prix de vente, et ainsi le pouvoir d'achat surtout des produits de premières nécessité (pomme de terre carotte etc.); les risques potentiels de pollution de l'environnement ainsi que l'épuisement des sols en raison de leur surexploitation qui s'oppose à cette pratique sont autant d'inconvénient. (Ary B. et *al.* 1988)

D'une autre part, ces engrais possèdent un effet néfaste sur la durée de vie de la terre et favorisent sa mort par désagrégation et perte par une minéralisation rapide des éléments organiques du sol en contribution avec des micro-organismes telluriques à effet primordial sur la dégradation et la régénération périodique de la matière organique, soit par la fixation de l'azote atmosphérique ou bien par l'assimilation de l'azote minéral et du gaz carbonique; soit par la minéralisation de la matière organique préexistante et devient ainsi un simple support de la plante.(Davet P., 1996).

Le sol constitue un réservoir inépuisable et riche en formes variées de produits de métabolisme de micro-organismes: dégagement d'anhydride carbonique, ammoniacque, formation de nitrates, libération d'oligosaccharides à partir de sucres complexes. Ces micro-organismes sont des êtres vivants qui présentent schématiquement des besoins nutritifs analogues à ceux des formes supérieures de vie. Pour leurs croissances et leur développement ils requièrent des aliments pour leurs processus vitaux et la synthèse tissulaire. Selon les cas, ces deux buts sont atteints grâce à des sources nutritives différentes ou identiques.

En plus de ces deux classes d'aliments individualisés par «les énergétiques», (qui sont destinés à couvrir les dépenses de synthèses spécifiques, protéines, acides nucléiques, ...) et les «essentiels», (constituées par les éléments constituant C, H, N, P, K, S,..), on distingue des facteurs de croissance indispensables à certains types microbiologiques qui sont incapables à les synthétiser (Soltner D., 1988).

Un apport partiel est fourni par l'enfouissement des débris végétaux de la récolte précédente afin d'améliorer la teneur de ces sols en matière organique et en éléments minéraux.

Notre travail comportera donc deux parties dont l'une consistera à comparer l'influence des deux parties de la fève, utilisée (*Vicia faba*), feuilles et tiges, séchées et broyées séparément, vu leurs teneurs différentes en matières organique et en substances flavonoïdes (Donalds A., 1997) sur la fertilisation des sols (en dosant différents éléments minéraux tels que l'azote le carbone, les sucres totaux libérés dans le sol, formation et minéralisation des acides humiques et acides fulviques, évolution du pH, étude de la respirométrie aérobie et anaérobie, ainsi que l'évolution des germes hétérotrophes champignons totaux et des bactéries du cycle du carbone en fonction de la décomposition des différentes parties de la plantes.

En deuxième lieu nous avons isolé et sélectionné des bactéries cellulolytiques des deux amendements (deux de chaque) ainsi que leur caractérisation et étude de l'activité cellulolytique sur substrats synthétiques et naturels.

Toutes les expériences sont réalisées *in-vitro*, c'est à dire à des facteurs d'humidité et de températures contrôlées, lesquels dans des conditions naturelles peuvent avoir une influence remarquable sur l'évolution et l'étude.

1. Généralités

1. Généralités

1.1. Le sol

On désigne d'une manière générale le sol comme la couche superficielle de la terre distinguée de la roche mère, c'est la couche externe arable de la surface terrestre.

On définit aussi le sol suivant son utilisation, le fermier a une conception pratique du sol et le voit comme un milieu où poussent les cultures, par contre l'ingénieur en génie civil le considère comme un support des buildings et des chaussées ...

Mais de toutes les conceptions, la plus importante est celle d'un milieu pour la croissance des plantes. Cette conception devient de plus en plus importante avec la croissance démographique de la population mondiale (Foth, 1978)

Le sol est considéré comme l'un des endroits les plus dynamiques de la nature, en ce qui concerne les relations d'échange entre les êtres vivants ainsi que les réactions biochimiques liées à la dégradation de la matière organique (Alexander, 1982)

Le sol est le matériel qui nourrit et supporte la croissance des plantes, mais selon (Pochon et De Barjac, 1958), il constitue le grand réservoir de presque tous les micro-organismes planétaires, ils concourent à la vie du sol, considéré comme un organisme vivant. Ce sont les micro-organismes qui forment le champ d'étude de la micro-bio-logie du sol.

Chacun de ces germes ne vit pas seulement pour son propre compte, il est tout d'abord en rapport avec d'autres germes de la même espèce ou d'espèces différentes, qui agissent d'une manière synergique.

L'ensemble de cette microflore synergique est doué d'activités différentes parfois antagonistes.

Entre ces groupements s'établissent des interactions similaires à celles qui existent dans un organisme supérieur, les différentes fonctions physiologiques s'intriquent, se répercutent les unes sur les autres et coopèrent à l'équilibre et à la vie de l'organisme entier.

La connaissance de la nature du milieu où vivent les micro-organismes est considérée comme une phase assez importante pour l'étude de la microflore du sol. (Duchaufour, 1979) suppose que la microflore du sol ne peut être et ne doit pas être l'étude bactériologique des espèces, que les techniques usuelles permettent d'en isoler. Un tel champ d'expérience serait à la fois, trop large et trop étroit. Trop large car il engloberait l'étude des germes qui n'ont rien à voir avec la vie du sol, comme les germes pathogènes dont le sol n'est qu'un réservoir ; trop étroit surtout, car il laisserait de côté les interactions biologiques et biochimiques dont l'importance est grande, bien que ce champ (étroit) donne une idée fautive des processus vitaux du sol, confondant les potentialités de chaque espèce avec ses possibilités dans le milieu complexe du sol.

Le sol apparaît réellement comme une entité, un organisme à la fois hétérogène pour sa structure, par la diversité de ses fonctions physiologiques et homogènes pour son équilibre et ses réactions vitales.

Le sol présente une structure qui met en évidence la présence de colloïdes organisés à la fois à l'échelle particulière ; aussi à l'échelle tissulaire, c'est au sein d'un tel tissu que se développent les micro-organismes.

La microscopie directe met en évidence cette structure et les colonies microbiennes autochtones en connexions entre les fins flocons de gel organiques et chimiques (Pochon et De Barjac, 1958).

Comme tout organisme vivant, le sol respire, fixe l'oxygène et libère le CO₂, comme chez tout organisme vivant l'eau joue dans le sol un rôle capital. Et enfin le sol peut vieillir et mourir.

1.1.1. Notion de fertilité:

La fertilité d'un sol est sa capacité de produire des fruits, c'est à dire à fournir des récoltes ayant un rendement élevé et de bonne qualité. Cette capacité repose sur un ensemble de propriétés du sol lui-même, telle la texture, la structure, la profondeur la réaction du sol, sa teneur en

éléments nutritifs, en humus ; ses propriétés de désorption et ses teneurs essentielles en éléments toxiques.

1.1.2. La fertilisation:

C'est un ensemble de pratiques culturales coordonnées ayant pour objectif d'assurer aux plantes cultivées une alimentation correcte dans l'ensemble des éléments nutritifs par l'apport de matière fertilisante (engrais et amendements) ; elle a pour but de créer, d'améliorer ou de maintenir les caractéristiques biologiques et physico-chimiques du sol, aptes à optimiser l'absorption par les plantes des éléments nécessaires à leur croissance et aux rendements, d'une part ; d'assurer la complémentation des fournitures en provenance du sol, d'autre part.

1.1.3. Les matières fertilisantes:

Les matières fertilisantes sont habituellement regroupées en deux catégories, les amendements et les engrais.

Les amendements sont des substances destinées à améliorer l'ensemble des propriétés des sols : propriétés physiques, chimiques et biologiques. Parmi les amendements on distingue d'une part les matières minérales, d'autre part les matières organiques.

Les engrais sont les substances destinées à fournir aux plantes en général par l'intermédiaire du sol, un ou plusieurs éléments afin de compléter les fournitures en provenance du sol lui-même.

La distinction entre amendement et engrais n'est pas parfaitement nette. Certains amendements, destinés dans un premier temps à l'amélioration des propriétés du sol, contiennent des éléments utilisables par la plante et participeront à sa nutrition.

1.1.3.1. Les amendements organiques:

Durant des milliers d'années, l'homme a reconnu l'importance de la matière organique dans la production de l'aliment. Des populations d'indiens nommés *Squanto*, enterraient des poissons morts dans leurs collines.

La matière organique est un ensemble de substances provenant de débris végétaux, de déjections et de cadavres.

Un sol prend naissance dès que la moindre vie végétale et animale vient s'installer dans les premiers débris de décomposition d'une roche. A la mort de ces êtres vivants leurs substances s'incorporent au sol, se mélangent aux substances minérales.

Soltner (1988), classe les matières organiques en quatre groupes de substances.

Les végétaux et animaux vivants : influent directement sur les propriétés du sol.

Les débris végétaux et animaux organisés : ou matières organiques fraîches, ont sensiblement la même composition que les tissus dont ils proviennent.

Des substances hydrocarbonées (sucres solubles, amidon, cellulose, lignine, matière grasse, résines).

Des matières azotées, surtout sous forme de protéines riches en P et S.

Des sels minéraux libres de calcium, magnésium, potassium, sodium.

Produits transitoires : qui sont les maillons de cette transformation portant des matières organiques fraîches à grosses molécules et aboutissant pour la plupart de ces molécules à des substances minérales simples à petites molécules, du gaz carbonique, sulfatesde potassium, de calcium, de magnésium, de sodium ...

L'humus : synthétisé au cours de l'humification qui commence aussitôt après proliférations microbiennes.

Du point de vue organique plusieurs auteurs dont Cizek V., 1967 ; Moureaux Cl., 1972 décrivent l'importance de la matière organique sur trois plans différents.

Elle améliore la structure des sols légers dont elle cimente les particules en agrégats stables et des sols lourds en diminuant l'adhésivité en les rendant friables.

Elle régularise l'humidité en favorisant l'évacuation de l'eau en excès des sols argileux et en augmentant la capacité de rétention en eau des sols sableux, protège le sol contre l'érosion et retient les pertes de nutriment par lessivage.

Biologiquement la matière organique est le support de l'aliment des êtres vivants du sol qui participent activement à la nutrition des plantes et à l'amélioration des qualités physiques du sol (Foth, 1978 ; Soltner, 1988).

a). Fumier de ferme

Il est constitué par un mélange de litière et de déjections animales ayant subi des fermentations plus ou moins poussées en étable et en tas. La décomposition varie suivant la nature et la proportion des matières premières.

Les amendements fumigènes devraient se faire régulièrement, idéalement tous les ans. Dans la pratique, ils sont effectués tous les trois à six ans.

En général, l'apport de fumier est réservé aux terres destinées aux cultures sarclées : betteraves, pomme de terre, maïs, crucifères, tournesol, plutôt qu'aux céréales.

Il faudrait incorporer le fumier au sol en superficiel, plutôt que de l'enfouir en profondeur. En anaérobiose, le fumier ne se décompose pas, ne se minéralise pas en aliment utile à la plante et constitue une sorte de discontinuité dans l'horizon exploré par les racines, avec risque d'intoxication et d'asphyxie pour la plante.

b). Le purin

On appelle " purin " l'ensemble des liquides s'écoulant des litières ou des fumiers. C'est un produit très fermentescible, qui doit être rapidement mis à l'abri et conservé dans une fosse étanche, à l'abri de l'air sous peine de voir se perdre une partie de l'azote qu'il contient (urée en aérobie donne NH_3 gazeux).

La composition est très variable ; en moyenne 1 m³ contient 1,5 à 2,5 kg d'azote ; 0,25 à 0,5 de P_2O_5 ; 4 à 6 kg de K_2O ; un peu de matière organique en suspension et des hormones qui exerceraient une action stimulante sur la croissance racinaire.

c). Le lisier

On appelle " lisier " le mélange de déjections liquides et solides, de l'eau avec un minimum de litière.

L'utilisation du lisier est très semblable à celle du purin.

d). Les résidus de récolte

Ce sont des déchets organiques laissés sur le sol après enlèvement d'une récolte (feuilles, racines, etc.) ; on distingue deux types : les résidus pailleux et les non pailleux.

Certaines cultures laissent donc des résidus capables de compenser en moyenne des pertes d'humus consécutive à la minéralisation.

Les résidus pailleux moins fermentescibles, ont un effet moins intense mais plus prolongé. Leur rapport C/N est élevé, peut être réduit par apport d'un peu d'azote.

e). La prairie

Il est difficile d'évaluer la quantité d'humus produite par une prairie. Pour une prairie temporaire (3 ans), cette quantité est de 750 à 900 Kg ; pour des prairies établies depuis longtemps, la valeur d'humus est d'au moins 1000 Kg/ha, mais peut être beaucoup plus élevé 2500 Kg/ha (Deloye et Rerour, 1958).

f). Les composts

Le compostage est le traitement de nombreuses matières végétales ou animales en vue de faire démarrer en milieu normalement anaérobie une fermentation en atmosphère confinée où l'effet sera la prolifération de micro-organismes avec réorganisation des matières minérales dont l'azote nitrique et ammoniacal.

De nombreuses matières peuvent être compostées.

-des déchets végétaux : fumiers, pailles, résidus de récolte, foin, broussaille.

-des déchets d'industrie : résidus de scieries, écorces, mares, pulpes.

-des résidus urbains : gadoues de ville, ordures ménagères triées, ...

-des résidus d'origine animale : riches en matières minérales qui peuvent être ajoutées à des matières végétales riches en carbone.

g). Les engrais verts

On appelle " engrais vert " des cultures de plantes à croissance rapide destinées à être enfouies pour améliorer les propriétés physiques et chimiques du sol et à l'enrichir en humus. On leur reconnaît plusieurs rôles.

-Ils améliorent la structure du sol par leur enracinement et sa protection contre la dépréciation due aux eaux de précipitation.

-Ils contribuent à la maturation des plantes par diminution du lessivage des éléments nutritifs solubles (azote nitrique par exemple), libération de matières minérales par décomposition, par remontée et restitution dans la zone superficielle de K_2O et P_2O_5 puisés dans les couches profondes.

Ces cultures sont de très faibles producteurs d'humus, mais la matière organique fraîche produite est très efficace pour l'amélioration de la fertilité chimique du sol ainsi que pour l'accroissement de son activité microbiologique.

Une culture d'engrais vert évapotranspire environ 150 à 200 mm d'eau de plus qu'un sol nu en conditions moyennes. Dans certaines régions, la culture suivante peut être gênée dans son développement par manque d'eau. (Giordano, 1958).

h). Répartition écologique de la matière organique

La teneur en matière organique des sols diffère suivant le type de sol et la nature de récolte (Foth, 1978 ; Alexander, 1982 ; Soltner, 1988) car les racines des herbes ont une vie courte et chaque année elles s'ajoutent à la matière organique humifiée se trouvant auparavant ; alors que les racines des arbres ont une vie longue et l'accumulation annuelle de matière organique se limitent aux feuilles et le bois tombant sur la surface (Demelon, 1966).

Les sols arides ont naturellement une très petite quantité de matière organique mais l'irrigation et la production de culture provoquent une augmentation de la teneur en matière organique, si celle-ci est retournée dans le sol, ceci peut créer alors un nouvel équilibre organique autre que l'original.

i). Rendement en humus des matières organiques enfouies.

L'humus libère des agents actifs de différents types de substances de croissance, des inhibiteurs de croissance, des substances améliorant la résistance des plantes. Il est un agent de la capacité de production des sols, il améliore les conditions de vie pour la plante et lui permet de produire davantage.

La quantité d'humus fournie, varie suivant le type de matière organique enfouie.

A cet égard, le rapport C/N est une caractéristique importante de la matière organique. Un humus a un rapport C/N d'environ 10 à 15.

Les matières organiques animales (muscles, graisses, sang, ...) ne contiennent pas de lignine, donc ne produisent pas d'humus.

Les matières à C/N faibles produisent peu d'humus, mais leur décomposition et la libération de l'azote qu'elle contienne sont rapides.

Les matières à C/N élevé, compris entre 15 à 30 permettent une bonne humification, les micro-organismes dispose de peu d'azote dans les matières organiques enfouies.

Les matières organiques à C/N très élevé, supérieur à 30 sont capables de donner de très fortes quantités d'humus, à condition que les micro-organismes puissent trouver ailleurs un complément d'azote minéral (préexistant dans le sol, apporté par une fumure minérale). (Delphin, 1986; Monnier, 1965)

L'humus permet d'obtenir la structure aussi bien dans les sols légers que dans les sols lourds, en raison des liaisons entre les grandes particules d'humus, les particules minérales. En cas d'action des destructeurs de la structure par des agents comme l'eau, le gel, certains travaux du sol, les matières adhésives produites par les micro-organismes du sol, (les humâtes ou sel d'acides humiques), peuvent avoir un effet stabilisant sur les propriétés structurales.

L'humus améliore la capacité de rétention de l'eau dans les sols, il améliore l'aération par la structuration du sol, augmente la température du sol par un meilleur drainage et par coloration foncée de la matière organique en cours d'humification.

j). Action sur les propriétés chimiques

La capacité d'échange de l'humus est plus élevée que celle de l'argile, il peut stocker en surface des ions nutritifs minéraux. La décomposition des matières organiques fraîches peu lignifiées ainsi que la minéralisation lente de l'humus stable, contribuent à la nutrition des plantes.

La libération de gaz carbonique par oxydation de l'humus, accroît la solubilité de certains éléments nutritifs dans le sol et facilite leur utilisation par la plante, et qui est recyclé pour la photosynthèse. (Balland, 1980)

1.1.3.2. Les amendements minéraux

Parmi les amendements minéraux, on trouve des matières qui ont pour effet, essentiellement de modifier la texture : ce sont par exemple le sable, destiné à alléger la texture d'un sol argileux ou la marne argileuse destinée à enrichir en fraction fine colloïdale les sols sableux trop légers.

Un autre groupe d'amendements minéraux, les amendements calcaires qui ont pour rôle d'améliorer les propriétés physico-chimiques du sol, en particulier l'état ionique de la solution du sol et du complexe argilo-humique. Il provoque comme modification principale, l'augmentation du pH ainsi que celle des teneurs en calcium et en magnésium des sols.

a). Principaux effets des amendements minéraux

Le calcium rend les sols plus meubles et plus stable : il favorise la porosité donc l'économie en eau et l'aération, il facilite le travail du sol et sa colonisation par les racines.

Les ions Ca^{++} et Mg^{++} se fixent sur les colloïdes chargés négativement et provoquent la floculation ; ils régularisent le pH, favorisent les échanges d'ions nécessaires à la plante.

Le calcium favorise l'humification, contribue à la formation du complexe argilo-humique et maintient le pH du sol dans les limites favorables à l'activité biologique, à la vie et à la croissance de la plante.

En effet, les éléments nutritifs sont difficilement absorbables, voire inassimilables pour certains pH.

En dessous de pH 5 ; P, K, Na, Ca, Mg, S, Mo, sont difficilement absorbés, par contre certains éléments toxiques sont très assimilables ; l'aluminium contenu dans les minéraux silicatés le manganèse, le cuivre. Au-dessus de pH 7 ; P cristallise, Fe, Mn, et Be, sont bloqués. (Pesson, 1971).

Le pH idéal pour la production végétale est donc en moyenne compris entre 6 et 7 ; les possibilités de production sur les sols ayant d'autres pH sont bien réelles, mais il est parfois vain, voire néfaste de vouloir modifier ceux-ci. Le calcium peut être échangé contre d'autres cations en particulier K^+ , NH_4^+ avec remise en solution du Ca^{++} et perte possible, souvent accompagnée d'une acidification du sol.

b). Effet sur les propriétés biologiques

Le calcium et le magnésium rendent le milieu favorable aux micro-organismes du sol, agents de la décomposition des matières organiques, de l'humification, de la minéralisation de la fixation symbiotique etc.

Si le pH est nettement acide, les bactéries sont absentes tandis que se développent les champignons peu actifs dans l'humification, avec pour résultats une accumulation de la matière organique non décomposée. De même, certains champignons parasites peuvent se développer (pied noir de betteraves, hernie de crucifères...)

c). Appauvrissement du sol en éléments minéraux

L'acidification est le résultat du remplacement des cations minéraux par des ions H^+ sur le complexe absorbant du sol.

Des pertes de calcium et de magnésium sont dues au lessivage des carbonates provoqué par le CO_2 et les acides organiques faibles, excrétés par les plantes ou la matière du sol.

Dans un sol cultivé, les pertes doivent aussi tenir compte des exportations par les récoltes ; celles-ci varient en fonction de l'espèce cultivée, des rendements exportés et de la richesse des sols.

La décalcification peut être remplacée par d'autres ions métalliques sans modification de pH. (Vanrero, 1974)

1.2. Microbiologie du sol

A côté de la végétation, développée en surface du sol, une multitude d'organismes microscopiques, se rencontre pratiquement dans tous les échantillons de sol. Caractérisée par sa diversité et son nombre, cette population se compose principalement de bactéries, des micro-champignons, des actinomycètes, des algues et des protozoaires.

Comme pour les populations de la micro-faune, certains des micro-organismes peuvent jouer un rôle néfaste sur la végétation comme pathogènes ; d'autres au contraire sont essentiels dans la production des composés nutritifs nécessaires à la croissance.

1.2.1. Les Bactéries

Se sont des êtres vivants microscopiques, leurs dimensions sont en moyenne de 1 à 2 x 1,5 à 4 µm, mais l'écart entre les valeurs minimales et maximales sont considérables ; ainsi la taille des Mycoplasmes et de l'ordre de 0,1µm, tandis que certaines bactéries filamenteuses ont une longueur de 1 mm (Davet, 1996).

1.2.1.1. Nutrition

Les cellules bactériennes ont besoin de matériaux de base pour construire leurs molécules organiques : du carbone, de l'azote, du phosphore, du soufre et divers autres éléments minéraux, éventuellement des facteurs de croissance. Certaines sont capables d'utiliser le carbone sous sa forme minérale ; le dioxyde de carbone (CO₂) atmosphérique ou dissous dans l'eau est l'élément de départ de toute leur synthèse organique ; on les qualifie d'autotrophes. Le plus grand nombre qui a besoin de composés organiques déjà synthétisés par d'autres organismes, se sont des hétérotrophes. (Dommergues et Mangenot, 1970)

L'énergie nécessaire au fonctionnement de la machinerie bactérienne est d'origine lumineuse ou chimique. Dans le premier cas, l'énergie lumineuse est captée par des pigments de même nature que les chlorophylles et les pigments caroténoïdes. Dans chacune de ces catégories on trouve des espèces capables d'utiliser le carbone minéral ou ayant besoin de carbone organique.

Il est très important de noter que les bactéries n'ont aucune possibilité d'ingérer les éléments dont elles se nourrissent. Pour être utilisé, les nutriments doivent obligatoirement d'abord, traverser la paroi, puis la membrane cytoplasmique, ceci n'est possible que pour des composés solubles et de faible poids moléculaire. Les nutriments de poids moléculaires élevés (la cellulose ou les molécules protéiques) doivent préalablement être fragmentés en éléments plus petits par des enzymes que les bactéries excrètent dans le milieu extérieur. L'hydrolyse des molécules et la diffusion de leurs fragments jusqu'à la bactérie sont impossibles dans un milieu non hydraté. On voit aussi à quel point la présence de l'eau est indispensable au développement bactérien. (Duchauffour, 1979)

1.2.1.2. Principaux groupes de bactéries du sol

a). Les Eubactéries

Elles comprennent les ordres des *Pseudomonales* et des *Eubactérialiales* dans lesquels on trouve les principaux genres vivants dans le sol (Dommergues et Mangenot, 1970).

b). Les Actinomycètes ou Eubactéries ramifiées

Ce sont des bactéries hétérotrophes ayant tendance à former un mycélium ramifié plus ou moins différencié, plus fin que celui des champignons (10 à 15µm). Ce sont des bactéries Gram positives, elles forment des filaments ramifiés et émettent des conidies, ce qui les a fait longtemps considérer comme des champignons. En effet leur appareil nucléaire est primitif ; leurs parois cellulaires sont composées comme chez les bactéries, de sucres, d'acides aminés et d'acides aminés; tandis que chez les champignons, ces parois sont surtout constituées de chitine et de cellulose. En outre le diamètre des filaments d'actinomycètes, qui est de l'ordre de 1 à 1,5 µm se rapproche plus de la taille d'une bactérie en bâtonnet que celle d'un filament de champignon.

Bien que la plupart des actinomycètes soient d'origine tellurique, les genres les plus connus et les plus représentés sont : le genre *Streptomyces* 70 à 90 % de l'ensemble des actinomycètes du sol, suivi du *Nocardia* (Dommergues et Mangenot, 1970).

Malgré leur quantité plus restreinte, comparée à celle des bactéries, quelques dix fois moins, les actinomycètes jouent un rôle particulièrement important dans la transformation des composés organiques difficilement dégradables par les autres micro-organismes.

L'intérêt des chercheurs s'est aussi porté sur leur capacité de produire des antibiotiques, et des vitamines. Quelques 500 antibiotiques ont été isolés à partir des actinomycètes dont les plus connus sont la Streptomycine, la Terramycine et la Néomycine (Duchauffour, 1979).

c). Les Bactéroïdes, Flavébactéries et organismes apparentés

Ces organismes unicellulaires se différencient des Eubactéries par deux caractères essentiels : La flexibilité de leurs cellules de leur mode de locomotion. Celles qui sont sans fructifications, sont plus particulièrement spécialisées dans la cellulolyse et la chitinolyse : genre *Cytophaga* (Dommergues et Mangenot, 1970)

d). Les Cyanobactéries

Pourvues de pigments chlorophylliens et pas de chlorophylles, présentes en faible quantité dans tous les sols.

Plusieurs espèces ont aussi un nitro-gène qui leur permet de fixer l'azote atmosphérique. Leurs exigences nutritives à l'air, la lumière et l'eau sont donc réduites au minimum.

Les Cyanobactéries vivent à l'état isolé ou demeurent associées en filaments ; leurs parois sont parfois épaisses par une capsule polysaccharidique, parfois elles sont minces et les cellules peuvent ainsi se déplacer par glissement comme les Myxobactéries.

Dans des écosystèmes tels que les rizières, les Cyanobactéries fixatrices d'azote peuvent contribuer de façon notable à la fertilité azotée. Parmi les plus intéressantes, citons : *Anabena azotica*, *Autosira fertilissima*, *Tolypothrix tenuis*

e). Les Archéobactéries

Considérées comme leur nom l'indique, comme des formes extrêmement anciennes, ont un rôle non négligeable dans l'écologie microbienne du sol. Elles sont tellement différentes des autres procaryotes qu'il serait sans doute préférable de les ranger dans un règne à part : leurs parois ont une composition variable selon les genres, mais ne contiennent jamais de peptidoglycane ; leurs membranes et leur ARN ribosomien sont différents et la neutralité électrique de leur ADN est assurée par des histones, comme chez les eucaryotes et non par des polyamines.

Elles sont adaptées à des milieux extrêmes : sources chaudes et acides (certaines enzymes de thermoacidophiles fonctionnent encore à 130°C), saumures (*Halobactériacées*) ; environnement totalement privé d'oxygène (méthanogènes des boues, des décharges et du rumen). (Wood et Wilson, 1995)

f). Les exigences écologiques

Dans le sol, on rencontre surtout des bactéries mésophiles (température optimale entre 20 et 40°C) préfèrent des pH neutres ou légèrement alcalins. Des bactéries courantes du cycle du soufre, comme *Thiobacillus thioxydans*, peuvent cependant supporter des pH très acides.

Les populations bactériennes se distribuent dans le sol suivant la distribution de la matière organique. Ceci en raison du caractère chimio-organotrophe de la majorité des bactéries. Ainsi c'est sous couvert forestier et en présence d'une matière organique facilement décomposable que l'on a dénombré les populations les plus importantes. De même, en contact des racines de plantes et se nourrissent de leurs excédants, les bactéries sont plus nombreuses que dans le sol avoisinant.

1.2.2. Les Champignons

Ce sont des micro-organismes hétérotrophes filamenteux et immobiles. Si l'hétérotrophie est la règle générale, le caractère filamenteux n'est cependant pas un critère absolu puisque beaucoup de champignons, dont certains ont une grande importance pratique se présentent sous forme unicellulaire : se sont les levures, ainsi que plusieurs groupes de champignons inférieurs.

De même, si l'absence de mobilité est totale chez les champignons dits supérieurs, chez certains autres groupes, la dispersion est assurée par des zoospores flagellées.

Le cytoplasme est parcouru par des courants cytoplasmiques dirigés vers la zone apicale. Ce flux facile à observer chez les champignons dépourvus de cloisons, assurent un apport de nutriment et probablement d'hormones aux parties en croissance. Un courant en sens inverse ou cycle, beaucoup moins net, permet sans doute un retour d'information vers la base et une régulation des flux.

Le cytoplasme est bordé par une membrane constituée de phospholipides, de protéines et de stérols. L'ergostérol est un composant caractéristique de la membrane cytoplasmique des champignons à mycélium cloisonné.

Les Oomycètes non-cloisonnés ne sont pas capables de le synthétiser (Davet, 1996).

Ces quelques considérations suffisent pour montrer, que le règne des champignons constitue en fait un ensemble très hétérogène et regroupe des êtres vivants dont les ancêtres n'avaient guère de traits communs.

Néanmoins, l'importance numérique et le rôle joué par les divers groupes ne sont pas du tout les mêmes et lorsque, par la suite nous parlerons de champignons, c'est presque de tous les organismes filamenteux " typiques " qu'il s'agira.

Les champignons ont des modes de reproduction sexués qui font appel à des mécanismes très divers, aboutissant à la fusion de deux noyaux haploïdes. Ce zygote est généralement pourvu de parois épaisses qui lui permettent de survivre pendant une période défavorable. La reproduction sexuée ne joue généralement qu'un rôle modeste dans la dissémination, des champignons, comparée à la voie asexuée. La plupart des espèces sont capables de former des spores, soit à l'intérieur des sporocystes, soit sur des ramifications différenciées du mycélium (conidiophores).

En conditions défavorables, le cytoplasme d'un article d'un hyphes peut se condenser et s'entourer d'une membrane très épaisse formant un chlamydo-spore.

1.2.2.1. Nutrition

Les champignons sont des hétérotrophes : ils utilisent des composés organiques comme source de carbone. Comme chez les bactéries, la digestion de grosses molécules doit commencer dans le milieu extérieur, car seuls les molécules de taille relativement petites peuvent franchir les parois et gagner le cytoplasme. La panoplie enzymatique des champignons est extrêmement riche et leur permet d'utiliser, plus efficacement encore que les bactéries, les substrats les plus complexes : cellulose, lignine, kératine, acides humiques.

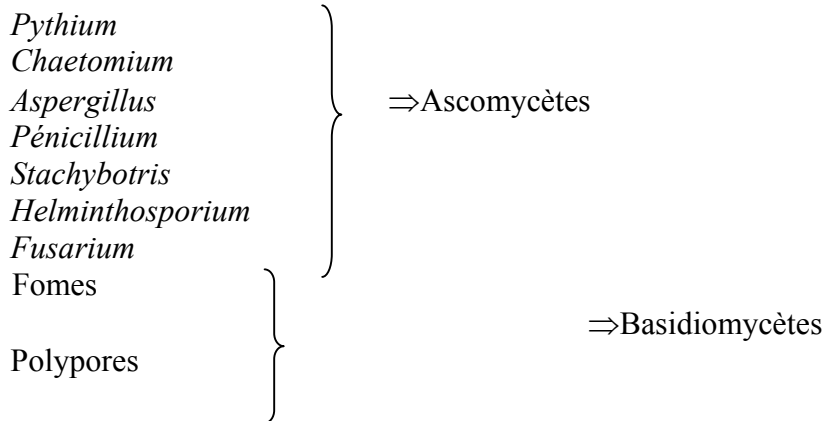
Dans les circonstances ordinaires, l'oxydation des molécules organiques fournit l'énergie dont les champignons ont besoin. Mais, lorsque ces résultats sont présents en trop faible quantité, beaucoup d'espèces peuvent aussi tirer leur énergie de l'oxydation d'ion ou de minéraux tels-que S, NH_4^+ , H_2 , Mn^{++} et réserver la totalité du substrat organique à la fourniture de carbone. Il semblerait que, dans ces conditions, un champignon banal comme *Fusarium oxysporum* soit capable de fixer le dioxyde de carbone atmosphérique, se comportant ainsi comme un chimio-autotrophe (Davet, 1996).

1.2.2.2. Caractères spécifiques des champignons et répartition dans le sol

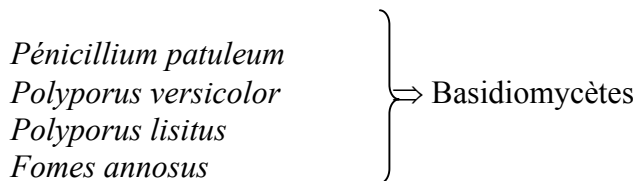
Les champignons peuvent être des colonisateurs primaires qui, avec les bactéries, envahissent les substrats nouveaux tombés sur le sol ; d'autres sont des colonisateurs secondaires qui se développent sur des substrats abandonnés par les premières vagues de micro-organismes.

Le complexe enzymatique des champignons peut être très actif.

a). Cellulolytiques : quelques espèces des genres



b). Lygninolytiques :



Toutes les pourritures blanches

c). Pectinolytiques

Pénicillium
Fusarium
Levures et basidiomycètes

La morphologie filamenteuse de la plupart des champignons leur permet de se développer sur de nombreux substrats tout en leur assurant leur alimentation indispensable (rhizomorphes de plusieurs mètres)

Installé sur ces nouveaux substrats, et grâce à leur complexe enzymatique efficace, ils vont perforer le revêtement protecteur (cuticules, membranes, etc.), et atteindre de nouveaux milieux nutritifs.

Ces perforations vont constituer par la suite, après la lyse des filaments mycéliens, autant de voies de passage pour les bactéries et autres micro-organismes.

Beaucoup de ces champignons exudent ou libèrent des produits variés ; substances hydrosolubles constituées de polyphénols, de sucres simples, d'acides aminés antibiotiques et surtout d'acides organiques, qui vont réorienter tout l'équilibre microbiologique, ou pigments granulaires sombres dont le rôle est important dans l'humification (Kilbertus et Mangenot, 1976)

d). Exigences écologiques

On a cru pendant longtemps que l'oxygène était indispensable au développement des champignons. On s'est ensuite aperçu que beaucoup d'espèces banales pourraient, au moins temporairement, s'en passer et utiliser d'autres accepteurs d'électrons. Dans ces conditions, elles ont souvent besoin d'un apport extérieur de vitamines ; *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* *Geotricum candidum*, peuvent avoir une croissance normale sous une atmosphère d'azote en présence de glucose et d'azote minéral (Tabak et Coock, 1968).

Les champignons ont besoin d'humidité, mais leurs exigences sont moins élevées que celles des bactéries c'est pourquoi on les retrouve dans les couches superficielles du sol, qui se dessèchent rapidement. La majorité des champignons permettent de les considérer comme des mésophiles : ils se développent de 40 à 45°C, mais ils ne supportent pas plus de 60°C. Un autre groupe, aussi restreint, croît à basse température (entre -5 et 10°C).

Les champignons supportent généralement bien les pH acides et dans de telles conditions, sont plus compétitifs que les bactéries pour l'exploitation d'un substrat. On trouve donc plus de champignons que de bactéries dans les sols acides.

1.2.3. Rôle et activité des micro-organismes

1.2.3.1. Transfert d'énergie

L'intervention des micro-organismes dans les cycles biologiques des éléments majeurs et des Oligo-éléments est capitale pour C, N et S puisque leur inactivité entraîne un emballage de ces trois cycles. Pour d'autres éléments (P, Fe, Mn...) l'intervention microbienne est plus limitée.

L'énergie ainsi utilisée pour des oxydations respiratoires aboutit à la minéralisation du C, N, S, P etc.

Le cycle du carbone joue un rôle fondamental dans le transfert d'énergie.

Environ 1,6% de l'énergie solaire utilisable est transformée en produits végétaux, qui constitue une source abondante d'énergie chimique.

Les micro-organismes hétérotrophes utilisent une grande partie de cette énergie, l'action des conditions climatiques (climat froid) ou stationnelles (hydromorphes) peut entraîner un ralentissement ou même un blocage du cycle du carbone.

1.2.3.2. Facteurs régissant l'activité microbienne dans les sols

L'activité des micro-organismes se manifeste s'ils sont présents, en nombre suffisant et si leurs exigences nutritionnelles sont satisfaites. De nombreux facteurs limitants (sources d'énergie, humidité, température, pH, Eh...) contrôlent cette activité.

La rhizosphère et la litière apparaissent non seulement comme zone préférentielle d'apport d'énergie, mais aussi comme milieux sélectifs des populations microbiennes.

Le facteur sol intervient par son humidité, sa teneur en oxygène, son pH sa structure, sa salure..., par exemple : la protection des micro-organismes en cas de dessiccation est d'autant plus grande que la teneur en argile est élevée (Duchauffour, 1982) ; la présence d'argiles électronégatives sur lesquelles peuvent s'adsorber les cellules microbiennes entraîne un décalage du pH optimum moyen de leur activité, car ce pH ne reflète pas l'acidité réelle du sol (Winogradsky, 1949)

Enfin, des interactions entre micro-organismes ou entre micro-organismes et des éléments de la faune créent des réactions de nature synergique ou antagoniste par exemple, l'association *Sporocytophaga myxococcoides* (Bactéroïdes) et *Folsomia candida* (Collemboles) accroît considérablement l'activité des micro-organismes.

1.2.4. Les Enzymes du sol

Les différentes transformations que subissent les fractions organiques du sol ne sont pas seulement le fait de micro-organismes vivants, mais aussi d'Enzymes diverses qui interviennent indépendamment de ces micro-organismes. Il s'agit d'une part, d'enzyme extracellulaire excrétées dans le sol par les organismes qui s'y développent (ex : protéinases, cellulases), d'autre part d'enzymes intracellulaires libérées lors de la mort des cellules (végétales, animales ou microbiennes) à la suite de la rupture de leur paroi. Bien qu'une partie de ces catalyseurs biologiques soit rapidement biodégradée ou dénaturée dans l'environnement tellurique, une autre partie conserve son activité pendant un temps plus ou moins long.

1.2.4.1. Rôle des enzymes dans le sol:

La teneur des sols en enzymes serait de l'ordre de quelques parties par million, ce qui représente un potentiel biochimique important, il s'agit de substances très actives qui ne sont nullement diluées dans toute la masse du sol, mais concentrées dans des sites (micro-habitats) bien délimités : Particules de matières organiques, d'argile, structures cellulaires plus ou moins dégradées.

Les commodités des méthodes enzymatiques, leur bonne reproductibilité font qu'elles apparaissent souvent d'un emploi plus aisé que certaines méthodes classiques en microbiologie du sol (méthode respirométriques, numérations) d'où leur succès. Mais l'interprétation des résultats en est plus délicate, car nous ne connaissons encore rien de l'équilibre entre les gains et les pertes d'enzymes par biodégradation ainsi que le dénombrement microbien ne reflète en aucun cas l'activité microbiologique d'un sol.

1.2.4.2. Principales enzymes mises en évidence dans le sol : (d'après Davet 1996).

a). Oxydoréductases ; déshydrogénases, glucose-oxydases, aldéhyde-oxydases, uricases, phénol-oxydases, ascorbate-oxydase, catalase, peroxydase, nitrate-réductases.

b). Transférases : Dextrane-sucrases, levure-sucrases, aminotransférases, rhodénases.

c). Hydrolases : Carboxylestérases, arylestérases, lipases, phosphatases, nucléases et nucléotidases, aryltransférases, amylases, α et β galactosidases, α et β glucosidases, invertases, protéinases et peptidases, asparginases, glutaminases, uréases, pyrophosphatases.

d). Lyases : Décarboxylases.

1.2.4.3. Etat des enzymes dans le sol:

Dans le sol, les enzymes se trouvent sous trois états; elles peuvent être libres, adsorbées sur les colloïdes ou renfermées dans des cellules mortes ou des fragments cellulaires.

a). Les enzymes libres:

Ce sont des enzymes soit extra cellulaires, soit intracellulaires qui ont été libérées dans le sol à la suite de l'autolyse de cellules microbiennes ou végétales. Il semble que, sous cette forme, les enzymes ne persisteraient pas longtemps car elles subiraient une biodégradation rapide.

b). Les enzymes adsorbées par les colloïdes du sol :

L'adsorption des enzymes sur les colloïdes minéraux du sol peut entraîner leur inactivation partielle, mais peut aussi protéger certaines d'entre elles contre la biodégradation ou la dénaturation par traitement.

Quant aux colloïdes organiques, les phénomènes d'adsorption des enzymes peuvent vraisemblablement jouer un rôle moyen dans certains types de sol, mais dans l'état actuel, il est impossible d'affirmer si cette adsorption entraîne ou non une inhibition de l'activité des enzymes (Szakacs-Dobozi et al. 1985), et si elle exerce ou non un effet protecteur vis à vis de la biodégradation.

c). Enzymes des cellules mortes ou des fragments cellulaires

Si de nombreux chercheurs considèrent que les enzymes du sol sont essentiellement à l'état adsorbé sur les argiles, d'autres estiment que celles ci pourraient aussi se trouver en quantité relativement importante dans des cellules mortes ou des fragments cellulaires d'origine microbienne ou végétale (débris d'origines aériens ou cellules d'exfoliation des racines).

Mouraret, (1965) a comparé le comportement dans le sol de l'asparginase de levure sous deux formes : à l'état libre (préparation acellulaire) et à l'état de cellules, il a constaté que l'asparginase existant spontanément dans le sol se comportait comme l'asparginase apportée avec les cellules de levure.

Il en déduit que dans les sols étudiés, l'asparginase se trouve essentiellement à l'intérieur des structures cellulaires. Se fondant sur des recherches portant sur le saccharose de levure, (Dommergues et Mangenot, 1970) sont arrivés à la conclusion que les enzymes qui se trouvent encore à l'intérieur de ces structures cellulaires se conservent beaucoup mieux dans le sol que les enzymes libres, qui disparaissent très rapidement.

1.2.4.4. Origine des enzymes du sol

Bien qu'il soit difficile de l'apprécier, on peut admettre que dans beaucoup de sols, une fraction des enzymes est synthétisée par les micro-organismes.

L'accroissement de la population microbienne, résultant de l'incorporation au sol d'un substrat donné entraîne une augmentation l'activité enzymatique liée à ce substrat. Ainsi l'addition au sol de saccharose, en stimulant la microflore dégradant ce sucre, enrichit le sol en saccharase (Dommergues et Manganot, 1970)

Il arrive cependant que l'incorporation au sol d'un substrat donné induit l'enrichissement du sol en une enzyme ne dégradant pas ce substrat. Ainsi, l'adjonction de glucose à un sol tourbeux augmente sa teneur en uréase, Cette anomalie peut s'expliquer par :

La stimulation de micro-organismes qui s'attaquent non seulement au substrat considéré, mais aussi à d'autres substrats pré-existants dans le sol.

La stimulation de micro-organismes produisant non seulement l'enzyme recherchée, mais d'autres enzymes constitutives, dont la teneur s'élève.

La dégradation du substrat apporté à l'état de produit intermédiaire qui constitue alors de nouveaux substrats différents du substrat original sur lequel prolifèrent des vagues microbiennes successives.

Il faut noter aussi qu'il a été démontré que la végétation contribue à l'approvisionnement du sol en enzyme. Cette contribution est particulièrement importante au niveau de la sphère rhizosphérique et au niveau de la rhizosphère (Pesson, 1971).

L'accroissement d'activité enzymatique du sol sous l'effet de la végétation résulte :

- De l'apport au sol d'enzymes contenues dans les résidus végétaux et dans les exsudats racinaires (enzymes d'origine végétale).

- De la stimulation des synthèses d'enzymes microbiennes sous l'effet de l'enrichissement du sol en substrats énergétiques, tels que litières ou exsudats racinaires (enzymes d'origines microbiennes).

1.2.4.5. Facteurs écologiques régissant la répartition et l'activité des enzymes.

a). Le pH:

Le pH du sol influe sur l'activité des différentes enzymes à la fois directement, puisque chaque enzyme présente un optimum qui lui est propre et à la fois indirectement en modifiant l'équilibre entre les processus de synthèse et de biodégradation de ces catalyseurs biologiques ou de leurs substrats.

b). L'Humidité:

Dans la plupart des sols et pour de nombreuses enzymes, la dessiccation à l'air diminue l'activité enzymatique. Il est donc nécessaire de mesurer l'activité enzymatique sur des échantillons, immédiatement après le prélèvement.

c). La Végétation:

La végétation peut contribuer directement ou indirectement à modifier la teneur du sol en enzymes. C'est en particulier le cas des espèces forestières qui par effet-litière, contrôlent dans une large mesure, la teneur en enzyme des horizons de surface des sols où elles poussent.

d). Les Types pédologiques:

Il est raisonnable de considérer que l'étude enzymatique des sols peut contribuer efficacement à leur caractérisation. Les enzymes se distribuent verticalement dans le sol ; l'allure des courbes de distribution des enzymes est très fréquemment du type décroissant, cette diminution progressive des teneurs en enzymes avec les profondeurs a été mise en évidence pour de nombreuses enzymes, telle que : maltase, lactase, amylase, saccharase et phosphatase. Mais il

existe des exceptions à ce type de distribution et, en outre, il n'y a pas nécessairement parallélisme entre les courbes de distribution des différentes enzymes dans un même sol (Dommergues 1968).

e). Les Fumures et façons culturales:

Les fumures organiques et minérales ne sont pas sans modifier l'équipement enzymatique des sols cultivés. Il semble que, dans certains cas particuliers, les dosages enzymatiques puissent être utilisés pour mettre au point ou contrôler l'efficacité des diverses fumures (Duchauffour 1960).

2. Matériel et Méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Choix du sol

Le sol provient de la station de l'I. T. G. C. (Institut Technologique des Grandes Cultures). Cette station est située à 24 m d'altitude dans la commune de Oued Smar ; (Daïra d'El Harrach ; Wilaya d'Alger). Elle est caractérisée par un bioclimat subhumide et un sol argileux (l'argile dépasse 50 %) (Meziani, 1978).

Le choix s'explique par la réalisation sur ce site de nombreux travaux à savoir : l'étude pédologique, étude de l'inoculation du blé dur, isolement des bactéries fixatrices d'azote symbiotique, ainsi que les bactéries productrices d'exopolysaccharides (EPS) par l'équipe du laboratoire de Biologie des sols ; Faculté des Sciences Biologiques (Kaci 1988 ; Amrani 1989 ; Guemmouri 1992).

2.2. Echantillonnage

La figure 1 représente le plan de la station ainsi que les lieux de prélèvement.

Le prélèvement du sol a été effectué dans des conditions stériles, dans la parcelle N°11 non labouré. Afin d'avoir un échantillon homogène, la parcelle a été donc divisée en cinq blocs égaux (A, B, C, D et E), dans chacun des blocs des carrés de 1m de côté sont désignés. Après avoir enlevé la couche superficielle (environ 5cm) pour éliminer les débris végétaux. Le sol est prélevé dans 5 à 6 points dans différents carrés sur une profondeur de 20 cm (profondeur prospectée par les systèmes racinaires).

Au laboratoire, le sol est débarrassé des fragments de racines des cailloux ; les mottes de terre sont écrasées. Un échantillon représentatif est préparé en mélangeant les différents prélèvements.

Le sol est mis à sécher à température ambiante et ensuite tamisé dans un tamis à 2 mm de diamètre à mailles rondes, puis stocké dans un endroit sec pour réaliser différentes expériences microbiologiques et biochimiques.

2.3. Le matériel végétal

2.3.1 Choix du matériel végétal

Nous avons choisi la fève (*Vicia faba*) en raison de sa grande culture parmi les légumineuses en Algérie. Il faut noter que la fève accumule particulièrement sous forme libre la L-3, 3 di-hydroxy-phenyl-alanine (D. O. P. A.), qui est un acide animé non protéique impliqué dans la biosynthèse de nombreux composés secondaires chez les végétaux (Poirson et Lahrer, 1986). L'acide cinnamique et l'acide *P*-coumarique, produits à base de flavonoïdes et de lignines sont responsables de l'odeur de certaines espèces végétales, tels-que le mélilot (*Melilotus albus*) et stimulent aussi la nodulation chez les légumineuses (Richter, 1992).

2.3.2 Préparation du matériel végétal

Le matériel végétal a été prélevé à la même période que le sol, dans la même zone de notre travail et pendant une semaine non pluvieuse. Les plantes ont été recueillies sans les racines après la récolte des gousses, elles ont été suspendues de manière à accélérer leur séchage par aération à température ambiante et éviter la putréfaction. Une fois sèches, les feuilles et les tiges sont broyées séparément. La poudre obtenue est enfin stockée dans des pots fermés hermétiquement et mis au sec.

2.4. Analyse physico-chimiques du sol

3 séries de 33 Erlenmeyers de 600 ml de volume, ont reçu chacun 100g de terre sèche.

La 1^{ère} série (A) est amendée avec 10g de la poudre de feuilles.

La 2^{ème} série (B) est amendée avec 10g de la poudre de tiges.

La 3^{ème} série (C) est non amendée, elle sert de témoin.

Tous les sols sont humidifiés à 32% (32 ml d'eau distillée stérile pour 100g de sol).

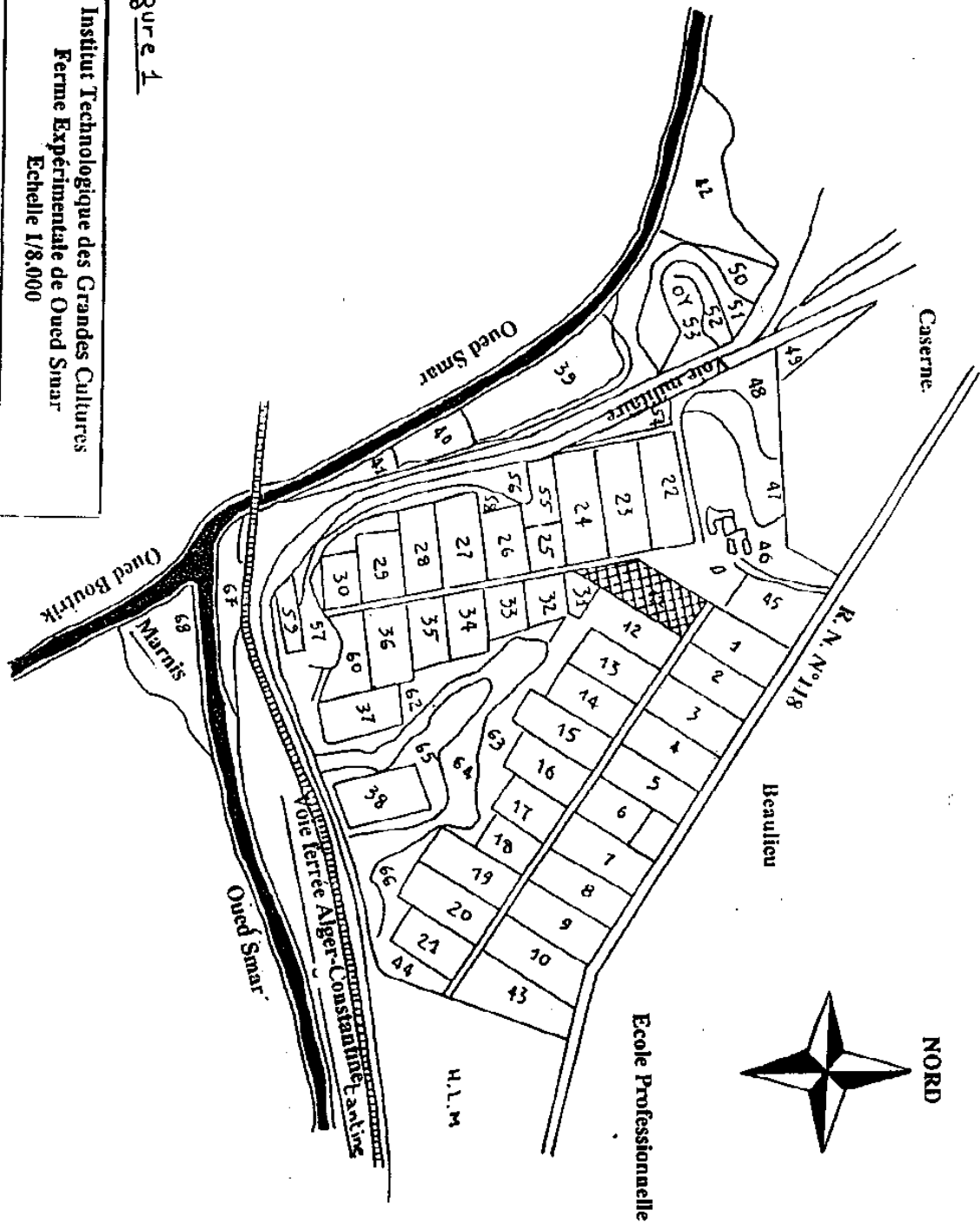


Figure 1

Institut Technologique des Grandes Cultures
 Ferme Expérimentale de Qued Smar
 Echelle 1/8,000

30 Erlenmeyers de chaque série sont bouchés avec du coton afin de permettre une bonne aération, les trois autres restants ont reçu de l'azote moléculaire, puis bouchés avec un bouchon en caoutchouc afin de créer une anaérobiose.

Les différents dispositifs sont mis à incuber à 28°C pendant une période de 52 jours.

Sur ces derniers, ainsi que ceux traités à l' N_2 le CO_2 respirométrique est dosé. Les Erlenmeyers réservés à l'étude de l'anaérobiose sont remis en incubation. Les trois erlenmeyers utilisés pour la respirométrie aérobique vont subir différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques à des temps différents à savoir : (0, 1^{er}, 3^{ème}, 7^{ème}, 21^{ème}, 28^{ème}, 35^{ème}, 42^{ème}, 52^{ème} jour).

2.4.1. Evolution de la matière organique:

L'estimation du taux de matière est réalisée par incinération de 5g de l'échantillon à 500°C durant 3 heures.

Dosage du carbone total : selon la méthode Ann.

Evolution du CO_2 : dans les conditions d'aérobie et d'anaérobie par barbotage dans de la baryte, selon la méthode de Petersen (1962) modifiée par Rashid et Shaeffer, (1985).

2.4.2. Dosage de l'azote au cours de l'incubation

Azote total : déterminé par la méthode de Kjeldhal

Azote ammoniacal, nitreux et nitrique : selon la méthode au Dewarda de Drouineau et Gouny.

2.4.3. Dosage des composés organiques carbonés

Dosage des acides humiques et acides fulviques : (Duchaufour, 1982).

Dosage des sucres totaux : par la méthode à l'antrone (Up-degraff, 1969).

2.4.4. Evolution du pH

Elle a été effectuée par mesure électrométrique sur une suspension à 1/2,5 de terre dans de l'eau distillée.

2.4.5. Les analyses microbiologiques

Pour les analyses microbiologiques, nous avons utilisé la technique des suspension-dilutions et ensemencement selon les méthodes décrites par Pochon et Tardieux (1962).

2.4.5.1. Préparation des suspension-dilutions

La suspension mère a été préparée en agitant 10g de terre dans 100ml d'eau physiologique stérile, 2ml sont prélevés de la suspension mère, introduits dans un tube à essai contenant 18 ml d'eau physiologique stérile, pour obtenir une dilution au 1/10 (10^{-1}).

En changeant de pipette, 2ml sont prélevés de la dilution précédente introduits dans un autre tube de 18ml d'eau physiologique stérile, on obtient ainsi une dilution au 1/100 (10^{-2}).

Pour le reste des dilutions (10^{-3} ,, 10^{-9}) nous avons procédé de la même manière.

2.4.5.2. Microflore totale

A partir de chaque dilution, trois boîtes de Pétri sont ensemencées par étalement. L'incubation a eu lieu à 28°C, pendant 3 jours pour les champignons et une semaine pour les bactéries.

Certains antibiotiques ont été utilisés tels que la streptomycine, pour sélectionner la flore fongique et l'actidione pour les bactéries ; chacun à 40 μ g/ml

Le comptage a été fait sur les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300.

2.4.5.3. Groupement fonctionnel du cycle du carbone

Afin d'étudier la dégradation de la matière organique ainsi que son effet sur la fertilité du sol, nous avons dénombré les micro-organismes rentrant dans le cycle du carbone ; à savoir.

Les bactéries cellulolytiques (aérobies et anaérobies)

Les bactéries amylolytiques.

Les bactéries pectinolytiques.

Les méthodes utilisées sont celles indiquées par Pochon et Tardieux (1962), les dénombrements sont effectués par la détermination du nombre le plus probable (npp), selon la table de Mc Grady avec trois répétitions. L'incubation de chaque prélèvement a duré 15 jours.

2.5. Isolement des bactéries cellulolytiques et étude de leur activité.

2.5.1. Isolement et sélection:

Le milieu de base utilisé pour l'isolement de ces bactéries, que nous appellerons milieu "A", contient les composés suivants (en g/l) (Chetouane 1986)

Cellulose microcristalline.....	1
Sels minéraux (NH ₄) ₂ SO ₄	2
KH ₂ PO ₄	2
K ₂ HPO ₄	6
Mg.SO ₄ .7H ₂ O.....	0,05
FeSO ₄ . 7H ₂ O.....	0,001
NaCl.....	0,05
Extrait de levure.....	0,05
Actidione.....	0,04

Après amendement de deux sols avec de la poudre de feuilles et de tiges séparément humidification (environ à 32 %) et incubation pendant 15 jours pour enrichissement des micro-organismes, des suspensions dilutions sont ensuite réalisées à 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ ; 0,1ml de chaque dilution est étalée sur boîte contenant le milieu "A", solidifié par 15 g/l d'agar-agar. Les boîtes sont incubées à 28°C pendant 2 jours.

Afin de sélectionner *in-vitro* quelques bactéries cellulolytiques efficaces et phénol-tolérante dans la dégradation de la matière végétale ; deux screenings ont été réalisés sur les souches isolées.

2.5.2. Premier screening : dosage des sucres réducteurs

Le dosage des sucres réducteurs nous renseigne, d'une manière approximative sur l'action des cellulases ainsi que la quantité de sucres restants (non consommés) donc action cellulasique importante due à l'activité des exocellulases.

Dans cette expérience, 32 Erlenmeyers de 250ml contenant chacun 100 ml de milieu "A" dans lequel la cellulose microcristalline est substituée par la C. M. C. (Carboxy Methyl Cellulose) ; ont été inoculés par 1ml d'une culture de 18 heures (environ 300 à 500 cellules /ml).

Après 15 jours d'incubation, toutes les cultures sont centrifugées à 400 tr/min pour recueillir le surnageant contenant les sucres réducteurs qui seront estimés par la méthode au DNSA (Dinitrosalysilic Acid) (Honda, 1984).

2.5.3. Deuxième screening : culture des souches isolées sur du phénol et de l'acide cinnamique comme des sources de carbone.

Le milieu "A" modifié en source de carbone à raison de 1g/l, est solidifié par 15g/l d'agar-agar, enrichi ou non par de l'extrait de levure à 0,05 g/l afin de voir son effet sur la croissance bactérienne.

A₁.....Glucose (G)

- A₂.....Extrait de levure (E)
 A₃.....Glucose + Extrait de levure (G + E)
 A₄.....Phénol (P)
 A₅.....Phénol + Extrait de levure (P + E)
 A₆.....Acide cinnamique (Ac)
 A₇.....Acide cinnamique + Extrait de levure (Ac + E)

Ces milieux sont inoculés par chacune des souches isolées, puis incubés à 28°C pendant 2 à 3 jours

2.5.4. Effet de la dose du phénol et de l'acide cinnamique

Nous avons utilisé différentes doses de phénol et d'acide cinnamique afin d'étudier la *tolérance-sensibilité* de quatre bactéries sélectionnées, à ces substances ; vu l'abondance des flavonoïdes et dérivés phénoliques dans la fève, leur action fongicides (Pometto, 1986), leur spécificité de conférer une résistance à certains insectes pathogènes ainsi que leur caractères stimulants la nodulation en présence d'une symbiose optimale dans les conditions climatiques (Myskow et Rybka-Wozniakowski, 1974).

Pour le milieu A1 contenant le glucose comme source de carbone, est additionné par différentes concentrations de phénol et d'acide cinnamique à savoir : 0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3g/l.

52 Erlenmeyers de 100ml à vis, contenant 50ml du milieu de culture auxquels ont été rajoutées différentes concentrations de composés phénolique, inoculés avec une préculture des quatre souches cellulolytiques sélectionnées, à raison de 1ml par erlen (environ 200 cellules) et puis incubés à 28°C sous agitation modérée (100 tr/min) pendant 3 jours.

Les cellules viables sont ensuite comptées après dilution en eau formolée colorée au bleu de méthylène, sur cellule quadrillée.

2.5.5. Etude de l'activité enzymatique : cellulolyse

Les activités cellulolytiques des quatre souches isolées sont étudiées sur différents substrats de commerce et sur le substrat végétal lui-même

Les quatre souches (F8, F9, T11, T13,) ont été testées séparément et en cultures mixtes (F8 + F9 et T11 + T13).

2.5.5.1. Extraction des enzymes cellulolytiques

Les enzymes cellulolytiques solubles sont recueillies après centrifugation à 2000 tr/min à 4°C dans le surnageant d'une culture bactérienne de 18 heures sur milieu «A».

2.5.5.2. Activité sur substrat commercialisé

Les substrats utilisés sont :

Carboxy-methyl-cellulose (CMC) Merck....à.....2, 5%

Papier tabac.....à.....2%

Coton hydrophile.....à.....1%

Cellulose en poudre (Merck).....à.....1%

Ces substrats sont mis en suspension dans 10ml de tampon phosphate-citrate à 25mM et pH7.

La réaction enzymatique a été démarrée par ajout d'un extrait enzymatique à volume égal à 30°C.

Des prélèvements de 1ml sont effectués aux temps 0, 10, 20, 30, 40, 50 et 60 minutes, refroidis dans de la glace, puis les sucres réducteurs libérés sont dosés par la méthode au DNSA (Dinitrosalysilic acide) (Honda, 1984).

Les substrats cellulolytiques étant insolubles, nous avons effectué des centrifugations à faible vitesse (5min à 1000g) afin d'obtenir des solutions limpides

2.5.5.3. Activité sur substrat végétal (*in-vitro*)

Le sable de rivière grossier, de taille inférieure à 1,4mm à été utilisé comme support solide après l'avoir traité au HCl concentré chauffé à 60°C pendant 16 heures ; ensuite l'acide est éliminé par des rinçages successifs à l'eau courante durant 6 heures, traité au CaCl₂ à 20mM durant 20 minutes et enfin de nouveau à l'eau courante pendant 5 minutes.

Après séchage le sable est réparti dans des Erlenmeyer à vis, à raison de 20 g/erlen, puis stérilisés deux fois 1 heures à 120°C (Halsall et Gibson, 1985)

Le matériel végétal (feuilles et tiges broyées), ainsi que la cellulose micro -cristalline sont ajoutée à raison de 100 mg /erlen ; homogénéisés puis stérilisés à 110°C pendant 20 minutes.

Composition de la solution minérale nutritive (en g/l)

MgSO ₄ . 7H ₂ O.....	0,2
NaCl.....	0,1
CaCl ₂	0,02
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O.....	0,002
MnSO ₄ .H ₂ O.....	0,01
FeNa EDTA.....	1,64 % (poids /volume).
pH :	7

2.5.5.4. Inoculation et incubation

Après humidification à 27% avec la solution minérale, la culture *in-vitro* est démarrée en ajoutant 0,5ml de chaque culture microbienne (pures et mixtes) dans les Erlenmeyers qui seront incubés à 28°C pendant 30 jours.

Après incubation les sables sont lavés avec 5ml d'eau distillée stérile et puis filtrés ; les filtrats sont centrifugés pendant 05 minutes à 1000 g, les sucres réducteurs sont alors dosés sur 1ml du surnageant par la méthode au DNSA (Honda S., 1984). L'unité est définie comme étant la quantité d'enzyme qui libère une mole d'équivalent glucose / unité.

2.5.6. Caractérisation des souches sélectionnées

Les quatre souches sélectionnées précédemment ont subi différents tests d'identification à savoir :

- Etude morphologique des colonies développées sur milieu solide des cultures jeunes et cultures âgées
- Examens microscopiques des cellules après dilution
- Observation à l'état frais et après coloration simple au bleu de méthylène
- Coloration de Gram en utilisant la coloration différentielle se basant sur le violet de gentiane et la fuschine basique de Ziel Nelson
- Test de mobilité sur gélose semi-solide
- Test de sporulation : mise en évidence de la spore, sa position et sa forme.

3. Résultats

3. Résultats

3.1. Résultats physico-chimiques

3.1.1. Minéralisation du carbone

3.1.1.1. Matière organique par incinération

Après amendement et incubation, nous constatons que la minéralisation de la matière organique débute juste après humidification.

Elle se manifeste d'une manière générale par une chute du taux de matière organique au bout de 7 jours. Chez le sol traité par les feuilles, suivie par une légère hausse se stabilisant à 21 jours jusqu'à la cinquième semaine puis entame une deuxième chute, arrivant ainsi au niveau du sol témoin. Le sol traité par les tiges commence sa minéralisation avec une allure légèrement ralentie, mais se stabilisant lui aussi à la 3^{ème} semaine et jusqu'à la fin de la l'incubation : 12 à 13 % de matière organique (fig. 2).

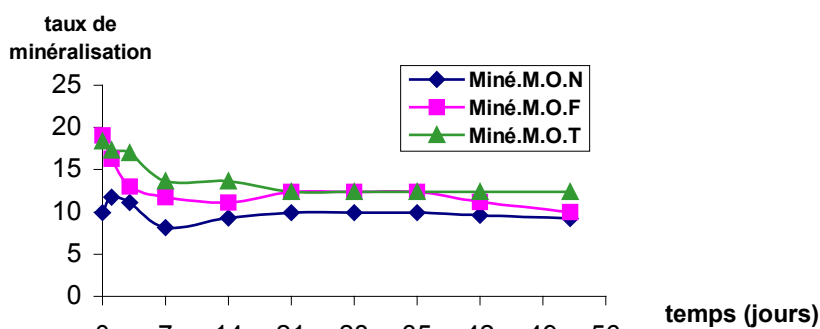


fig 2 : Taux de minéralisation de la matière organique dans les sols traités et témoin en fonction du temps,

3.1.1.2. Activité respiratoire

-Aérobiose

Les résultats de l'activité respiratoire sont exprimés par des courbes (fig. 3), qui montrent des différences d'intensité entre les feuilles, les tiges et le sol nu.

Avant le 14^{ème} jour l'intensité respiratoire la plus élevée est notée chez les feuilles (1,2mg/g/h), la plus faible dans le sol nu.

Au delà du 14^{ème} jour les feuilles et les tiges présentent la même intensité respiratoire. Pendant toute la durée de l'expérience le sol nu présente l'intensité respiratoire la plus faible

-Anaérobiose

Pour ce mode de traitement, nous remarquons une intensité respiratoire plus lente et à une vitesse plus réduite que celle de la respirométrie aérobie avec un maximum de 0,55 mg/g/h pour les feuilles, suivies par les tiges et enfin le sol nu (témoin). Cette respirométrie se montre active jusqu'à la deuxième semaine d'incubation ; à partir de ce moment elle commence à diminuer pour se stabiliser au 42^{ème} jour jusqu'à la fin de l'incubation ; quant au sol témoin nous remarquons que la respiration tend à s'annuler. (fig. 4)

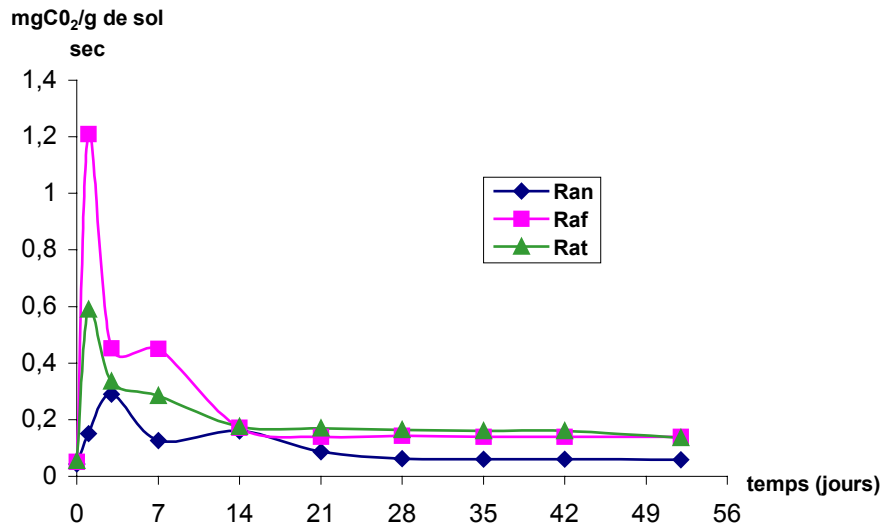


fig 3: Evolutions comparées des activités respiratoires aérobiques dans les sols traités et témoin (N. F. T.)

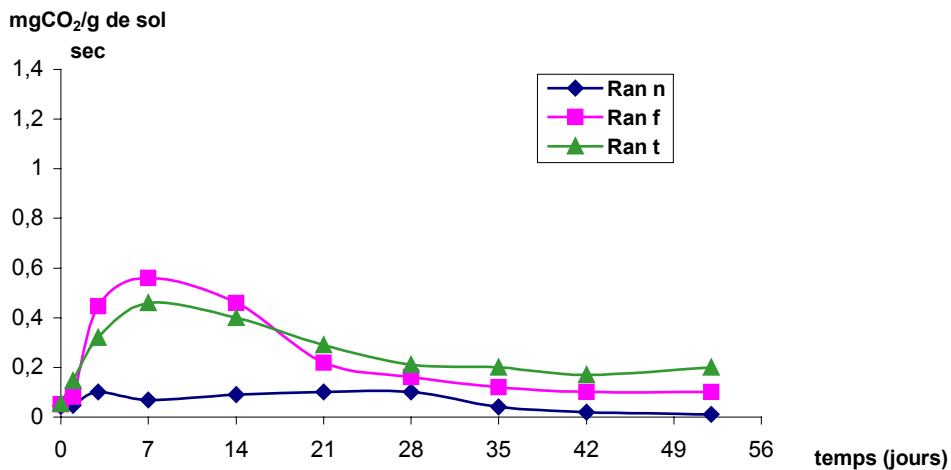


fig 4 : Evolutions comparées des activités respiratoires anaérobiques dans les sols traités et témoin (N. F. T.)

3.1.2. Minéralisation de l'azote

Conventionnellement l'azote minéralisable est défini comme étant la différence entre la teneur en azote minéral du sol et celle préexistante (Ahrens ,1976).

Pour cela nous avons tracé des courbes représentant le rapport entre l'azote minéralisé et l'azote total afin de pouvoir suivre l'évolution de la minéralisation durant l'incubation.

L'évolution de la minéralisation de l'azote montre des fluctuations quelques soit le sol traité ou non. Nous remarquons :

Qu'à partir du 14^{ème} jour les courbes de minéralisation de l'azote représentant le sol enrichi par les feuilles et celle du sol non traité sont opposées.

Que jusqu'au 35^{ème} jour l'évolution de la minéralisation est la même dans les sols traités par les tiges ou par les feuilles.

Que le taux de minéralisation est généralement plus élevé dans les sols traités par les feuilles sauf à partir du 37^{ème} jour où devient plus élevé dans les sols traités par les tiges (fig. 5).

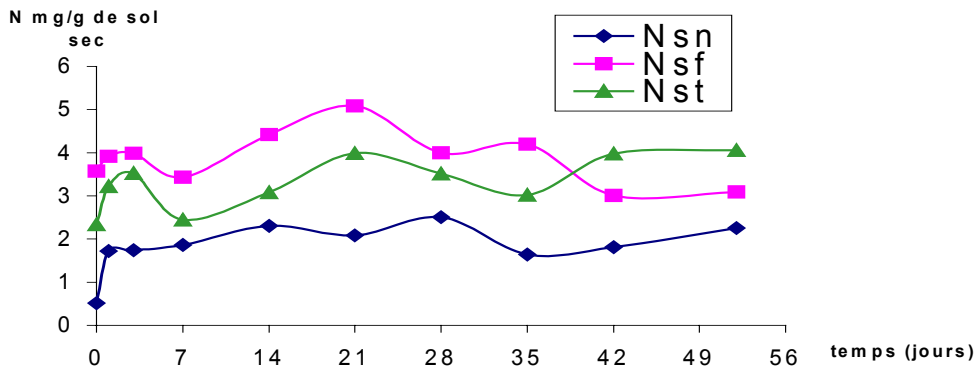


fig 5: Evolution de l'azote total durant l'incubation des sols traités et témoin (N. F. T.)

3.1.2.1 Taux de minéralisation de l'azote

Dans la figure 6, le rapport de minéralisation se trouve en chute rapide au début de l'incubation, ce qui montre aussi une teneur en azote pré existant dans le sol témoin beaucoup plus élevé que celles des autres. Dans le sol témoin, le taux de minéralisation chute rapidement au début de l'incubation ; ce qui montre une teneur en azote (lequel) est beaucoup plus élevé que dans les sols traités. Ces derniers prennent une légère fluctuation du taux de minéralisation durant toute la période d'incubation. Par contre le sol témoin montre une élévation du taux de

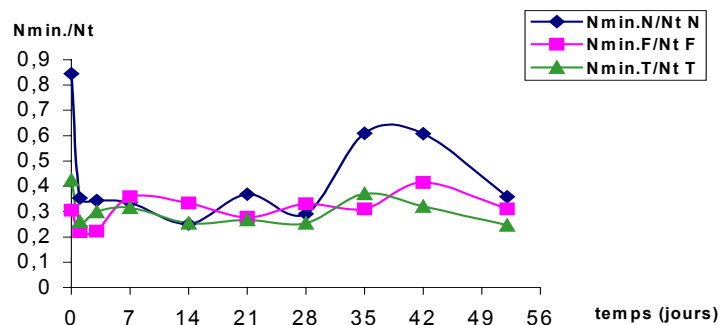


fig 6 Evolution du rapport de minéralisation de l'azote durant l'incubation des sols (N. F. T.)

minéralisation au 35^{ème} jour suivi d'une baisse au 42^{ème}. Le taux de minéralisation reste en général plus élevé dans le sol témoin que dans les traités.

3.1.3. Rapport C/N

Le rapport C/N traduit le phénomène de décomposition et de synthèse dans le sol, à l'état d'équilibre naturel, le rapport C/N est sensiblement égal à 10 (Demolon A.1966).

En exprimant la minéralisation par le rapport C/N nous remarquons que le sol traité par les tiges présente le C/N le plus élevé sauf au 21^{ème} jour où il est devancé par le sol non traité et à partir du 42^{ème} où cette place revient au sol traité les feuilles (fig. 7).

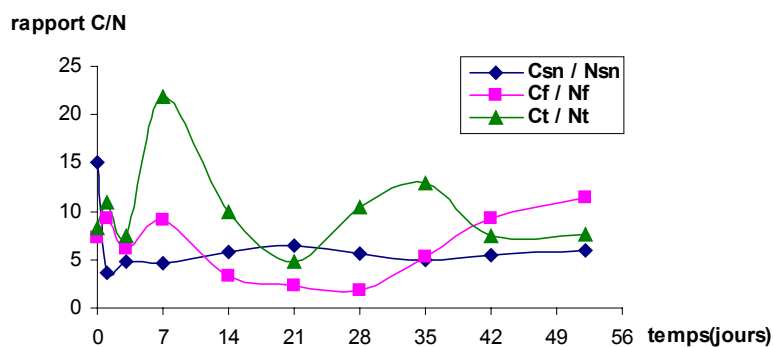


fig 7: Variation du rapport C/N durant l'incubation des différents sols, traités et témoin en fonction du temps (N. T. F.)

3.1.4. Evolution des sucres totaux

Les sucres servent surtout d'aliment énergétique et plastique aux bactéries et disparaîtront très vite avec production de CO₂, d'énergie et de corps microbiens ce qui provoque la multiplication des bactéries qui vont s'attaquer aux hemicelluloses et cellulose (Soltner, 1988)

Durant notre étude et aux temps indiqués, nous avons donc dosé les quantités de sucres totaux (hydrosolubles et acidosolubles) libérés dans le sol.

Les résultats nous expriment une chute rapide du taux préexistant dès le 1^{er} jour, surtout dans le sol traité par les feuilles, suivi par celui traité par les tiges et enfin le sol témoin (fig. 8).

A partir du 3^{ème} jour un ralentissement est enregistré à des temps différents selon l'amendement mais tend en général vers une stabilité entre 0,5 et 1 mg /g de sol.

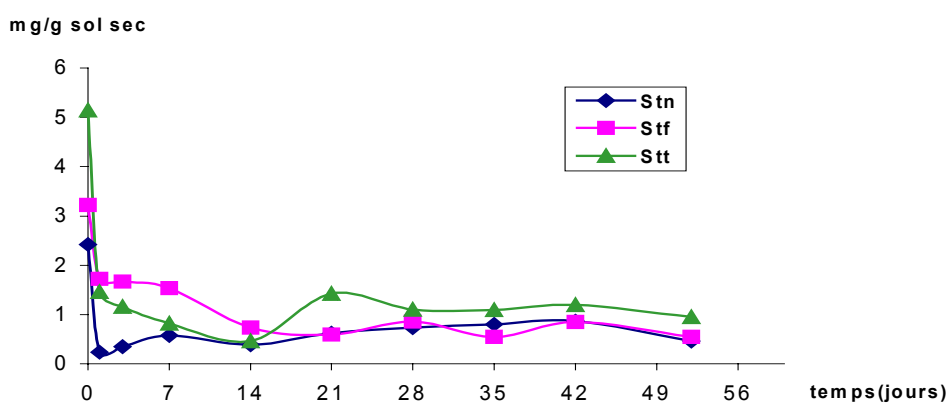


fig 8: Evolution de la production de sucres totaux au cours de l'incubation dans les sols traités par la matière organique et non traité

3.1.5. Evolution du pH

L'évolution du pH de nos échantillons étudiés durant la période de l'incubation donne un écart entre 5,8 et 7,5. Ce pH augmente légèrement dès le 1^{er} jour de l'incubation, puis tend à se stabiliser à la neutralité jusqu'à la cinquième semaine. A partir de cet instant le sol traité par les

tiges marque une légère augmentation de son pH qui tend vers l'alcalinité ; par contre le sol traité par les feuilles, il subit une nette acidité fig. 9

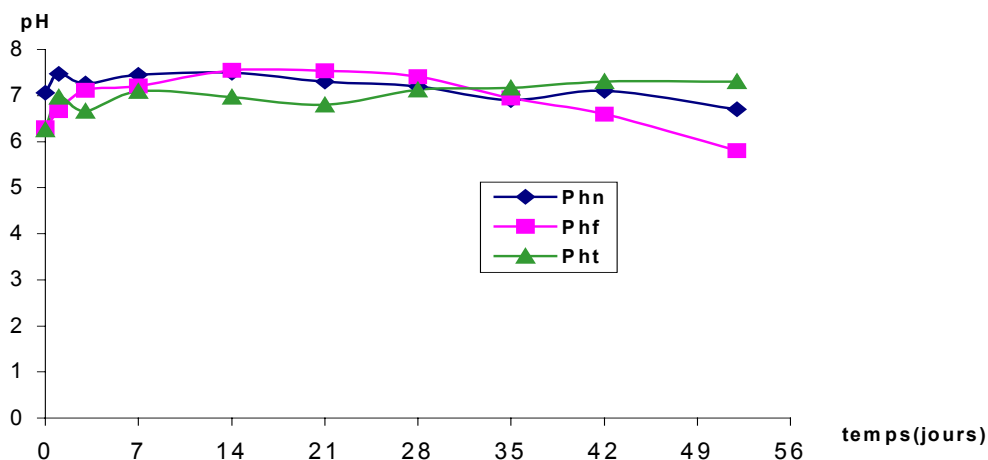


fig 9 :Variation du pH des sols traités par la matière organique et non traité au cours de l'incubation

3.1.6. Humification et minéralisation secondaire

Une partie de la matière organique difficilement décomposable, constituée à base de lignine, de composés phénoliques et de résidus peu transformés vont être le précurseur de l'humus. Ce dernier est une fraction colloïdale obtenue par synthèse, microbienne et physico-chimique à partir de la matière organique végétale (Soltner, 1988).

3.1.6.1. Dosage des acides humiques

Dans notre expérimentation, nous avons constaté que la minéralisation secondaire débute à partir du 1^{er} jour de l'incubation, elle est intense dans le sol à feuilles, elle se manifeste par une chute du taux d'humus.

Dans le sol traité par les tiges et dans le sol témoin nous notons aussi une minéralisation mais pas aussi intense que dans le sol traité par les feuilles. A partir du 3^{ème} jour, la minéralisation diminue dans le sol non traité. Elle se poursuit dans le sol traité par les tiges. A partir du 7^{ème} jour, la minéralisation tend à progresser dans les trois cas (fig.10).

3.1.6.2. Dosage des acides fulviques

Au jour de l'incubation nous constatons qu'il y'a une quantité pré existante d'acides fulviques, le taux le plus élevé est dans le sol à tiges, suivi par celui traité par les feuilles et enfin le sol nu (témoin).

Quant à son évolution au cours de l'incubation, nous remarquons que celle-ci et généralement fluctuante dans les trois cas.

La minéralisation est presque équivalente jusqu'au 35^{ème} jour où elle devient plus importante dans le sol nu (fig.11).

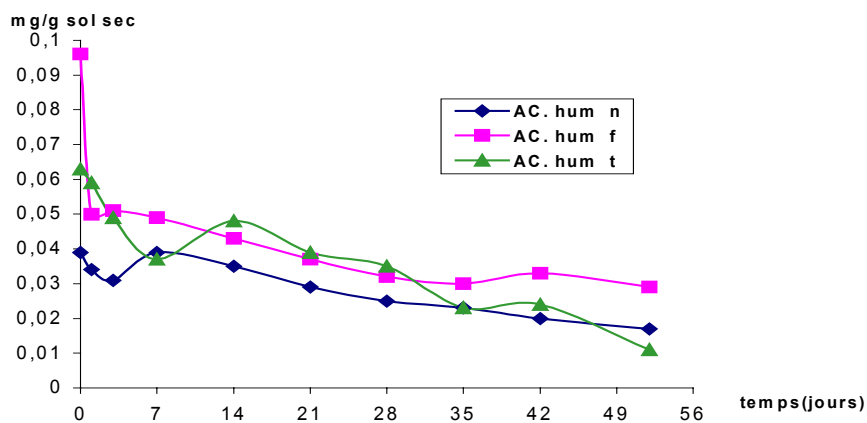


fig 10 : Production d'acides humiques au cours de l'incubation dans les sols traités et témoin (N. F. T.)

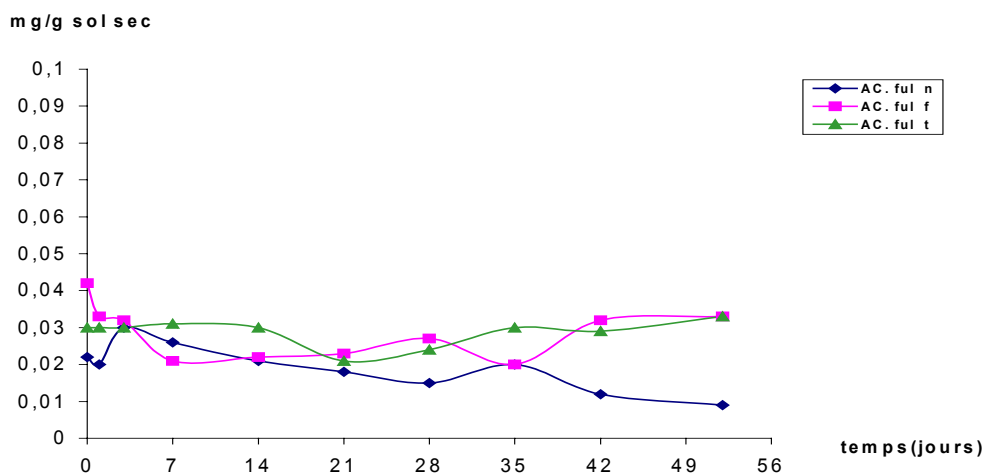


fig 11 : Production d'acides fulviques au cours de l'incubation dans les sols traités et témoin (N. F. T.)

3.2. Microflore

La culture microbienne exige un milieu optimum, avec des conditions de cultures optimales et propres à chaque espèce bactérienne. Dans le cas des cultures de germes totaux, toute méthode reste sélective, puisque le milieu doit être choisi à pH bien déterminé, mis en incubation dans des conditions de température et d'aération identiques, sans oublier les caractères restreints de l'habitat, dimensions microscopiques des pores, tailles des capillaires, etc....

3.2.1. Bactéries totales

Au début de l'incubation nous constatons une croissance remarquable du nombre de bactéries surtout dans l'échantillon traité par les tiges. Au delà de 24 heures cette croissance est suivie d'une baisse qui dure une semaine. Par la suite, nous remarquons une augmentation jusqu'au 14^{ème} jour suivi d'une stabilité.

Dans le sol amendé par les feuilles, nous notons une fluctuation qui a une tendance ascendante.

Dans le sol nu, le nombre de bactéries comptabilisées est le plus faible mais notons une fluctuation durant toute l'incubation avec une très légère tendance progressive (fig. 12).

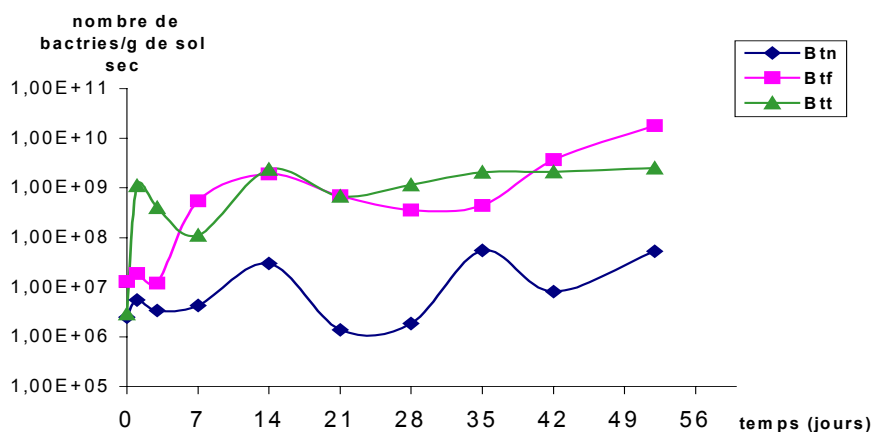


fig 12 : Evolution des Bactéries totales au cours de l'incubation des sols (N. F. T.)

3.2.2. Champignons totaux

Dans le sol non traité, nous constatons une nette augmentation du nombre de champignons durant toute l'incubation. Dans le sol traité par les tiges, le nombre de champignons augmente remarquablement après 24 heures d'incubation. Par la suite il baisse pour se stabiliser définitivement à partir du 7^{ème} jour (fig. 13). Dans le sol traité par les feuilles, l'augmentation est progressive jusqu'au 7^{ème} jour. Par la suite nous constatons une certaine stabilité jusqu'à la fin de l'incubation.

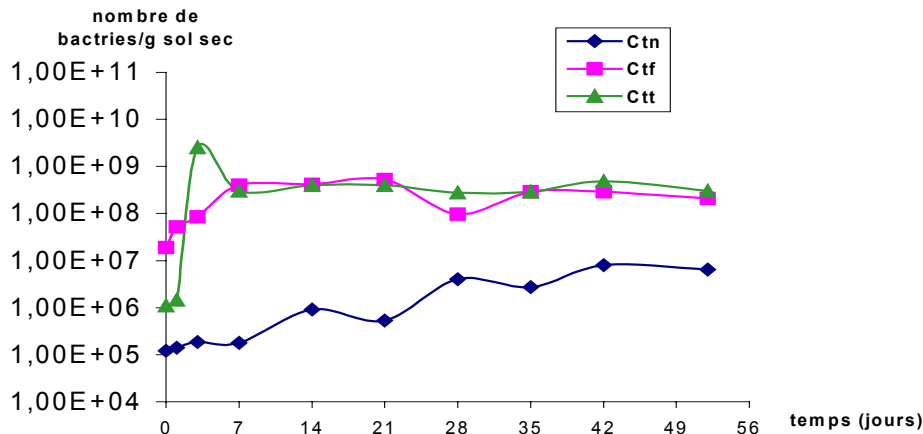


fig13 : Evolution des Champignons totaux dans les sols traités et témoin au cours de l'incubation dans les sols (N. F. T.)

3.2.3. Les bactéries du cycle du carbone

Il s'agit là d'un groupe physiologique qui révèle assez bien diverses fonctions des micro-organismes du sol.

Il faut remarquer que les méthodes proposées actuellement aux chercheurs mettent en évidence les micro-organismes zymogènes qui possédant un taux de croissance supérieur à celui des germes autochtones et par conséquent tendent à les dominer (Boulard et Morreau, 1962 ; Pochon et Tchan, 1948).

Ainsi, après amendement, humification et incubation les bactéries du cycle du carbone (les bactéries Cellulolytiques, Amylolytiques et Pectinolytiques) donnent des résultats de leur évolution globale.

Pour les bactéries Cellulolytiques, nous avons procédé à l'étude des aérobiques et anaérobiques.

3.2.3.1. Bactéries Cellulolytiques aérobiques

La figure 14 montre une certaine similitude pour les trois sols durant la première semaine et au delà du 28^{ème} jour. Entre le 7^{ème} et le 28^{ème} les résultats sont opposés entre le sol traité par les feuilles et le sol non traité.

En général le sol témoin se démarque par un nombre inférieur de cellules sauf au 21^{ème} jour où la baisse concerne plutôt le sol traité par les feuilles.

3.2.3.2. Bactéries Cellulolytiques anaérobiques

La plus importante remarque est la lenteur d'évolution des bactéries du sol traité par les tiges ; lors des premiers jours de l'incubation (07 jours), puis débute un ralentissement qui atteint son minimum au bout de la 4^{ème} semaine. Au delà du 28^{ème} jour une augmentation rapide et nette est enregistrée. Cette évolution (fig. 15) s'oppose parfaitement aux autres évolutions ; le sol témoin, suit une évolution inverse, elle débute par une décroissance rapide et tend à se stabiliser à la 4^{ème} semaine avec une légère fluctuation. Pour le sol amendé par les feuilles, nous enregistrons une allure, bien propre, d'abord une décroissance suivi d'une hausse maximale à la 3^{ème} semaine, puis une chute rapide dans la semaine qui suit, enfin une allure en cloche jusqu'à la fin de l'incubation.

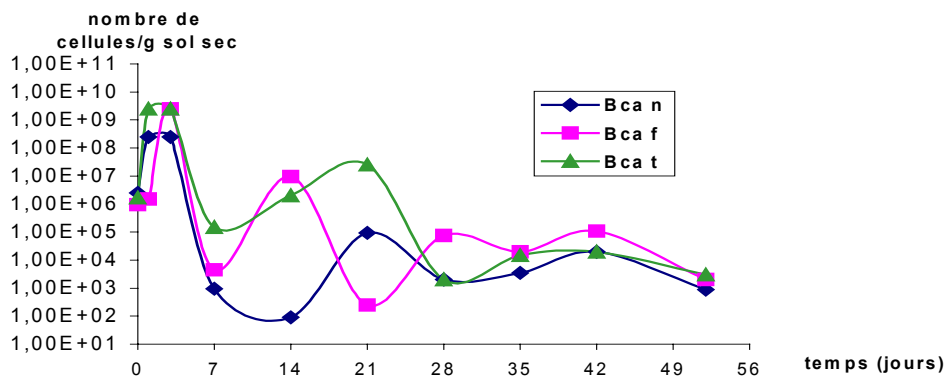


fig14 :Evolution des bactéries cellulolytiques aérobiques (N. F.T.)

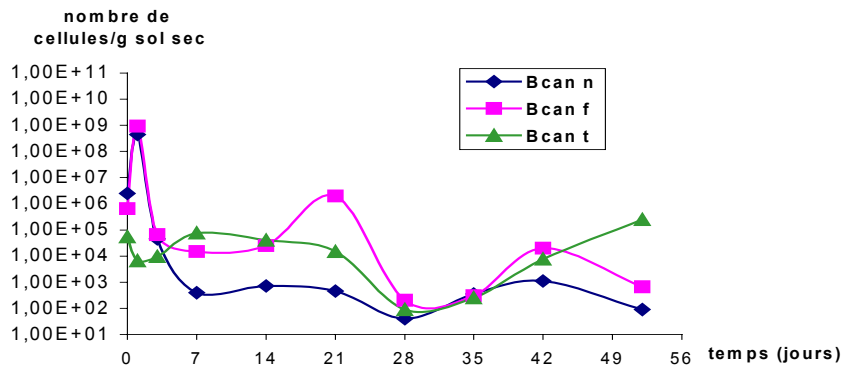


fig15 :Evolution des bactéries cellulolytiques anaérobiques au cours de l'incubation dans les sols (N. F. T.)

3.2.3.3. Les bactéries Amylolytiques

Nous remarquons en général une rapide croissance du nombre dès les premiers jours atteignant un maximum au 3^{ème} jour, puis une stabilité est enregistrée jusqu'au 21^{ème} pour les trois sols

A partir de la 3^{ème} semaine : -le nombre de bactéries diminue dans le sol traité par les feuilles et particulièrement dans le sol non traité. Par contre, dans le sol traité par les tiges, la stabilité se poursuit et a tendance à une légère croissance à partir de la 6^{ème} semaine.

Concernant ce type de bactéries, la décroissance est remarquable dans les sols amendés par les tiges (fig. 16).

3.2.3.4. Les bactéries Pectinolytiques

Ces bactéries marquent pratiquement les mêmes types d'évolution que celui des Amylolytiques, pour les sols amendés par les feuilles et les tiges qui marquent une décroissance à partir de la 2^{ème} semaine et qui s'accroît à partir de la 3^{ème}, surtout pour le sol traité par les tiges qui se stabilise à partir de la 5^{ème} semaine, alors que pour le sol traité par les feuilles, cette décroissance est beaucoup plus ralentie à la même période et se stabilise à un nombre entre $1,7.10^7$ et $2,5.10^8$ cellules/ml (fig.17)

Cette dégradation pourrait permettre un développement microbien rapide au début du cycle, comme l'indique les résultats ; alors que pour la différence enregistrée entre le taux des tiges et celui des feuilles (Alexander, 1982). Quant à la cellulose, la différence remarquée dans l'évolution des bactéries anaérobies pourrait être expliquée par l'effet perméable des tiges sur la structure du sol en provoquant une aérobose inhibant ainsi les bactéries de se développer.

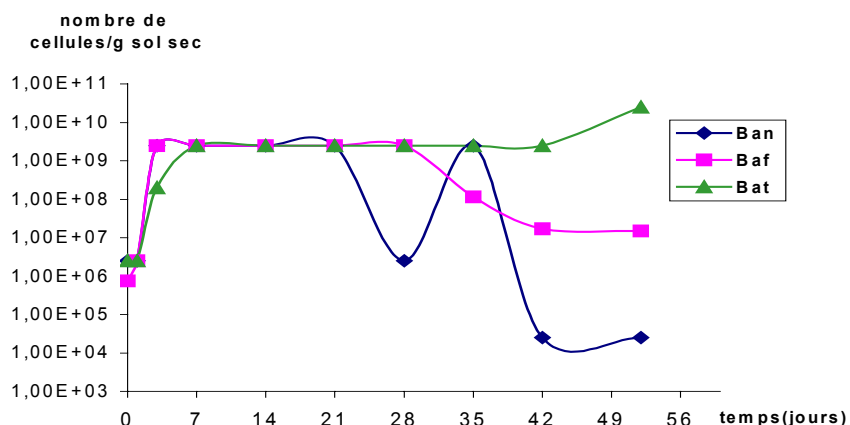


fig 16 : Evolution des bactéries Amylolytiques au cours de l'incubation dans les sols (N. F. T.)

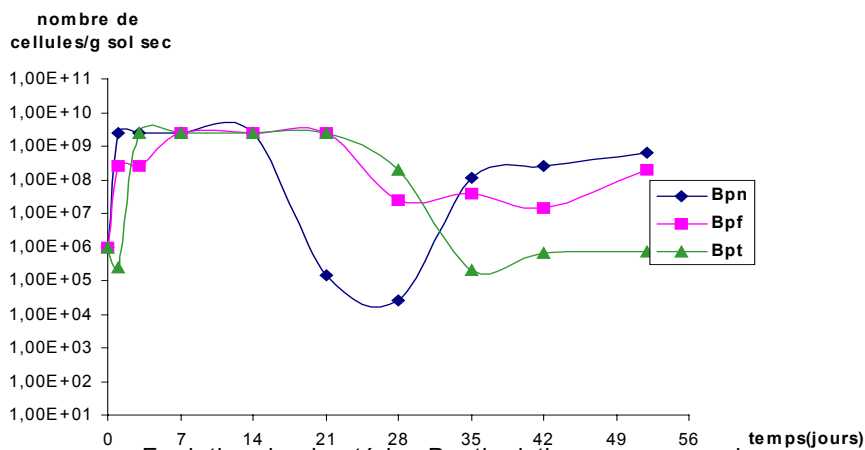


fig 17 : Evolution des bactéries Pectinolytiques au cours de l'incubation des sols (N. F. T.)

3.3. Isolement et sélection des souches cellulolytiques efficaces

En se basant sur les résultats obtenus des deux screenings réalisés, sur les 32 isolats, quatre souches ont été choisies ; il s'agit de F8 et F9 pour l'amendement par les feuilles, T11 et T13 pour l'amendement par les tiges. Ces souches ont montré une capacité de produire des quantités notables de sucres réducteurs dans le milieu par rapport aux autres Tableau.1, et en prenant en considération leur aptitudes à se développer sur les différents milieux solides (A1, A2,, A7).

La lecture des résultats sur ces milieux se fait en se basant sur la croissance et la taille des colonies développées à la surface : Tableau 2.

- ++++.....développement abondant
- +++.....développement moyen
- ++.....développement réduit
- +.....développement très réduit
- (-).....aucun développement

Ces souches sélectionnées sont, à savoir F8 et F9 pour l'amendement par les feuilles ; T11 et T13 pour l'amendement par les tiges ; ces souches ont subi encore une fois une étude de tolérance aux différentes concentrations de phénol et acide cinnamique.

3.3.1. Tolérance aux phénol et acide cinnamique

Les résultats exprimés nous montrent une évolution décroissante en fonction de l'augmentation de la concentration soit au phénol, soit à l'acide cinnamique.

3.3.1.1. Pour le phénol

Les souches F9, T11 et T13 réagissent d'une façon à peu près similaire à l'augmentation de la concentration du phénol. Quant à la souche F8, elle présente une décroissance nette à la concentration 2g/l de phénol. (fig. 18).

3.3.1.2. Pour l'acide cinnamique

Les quatre souches présentent approximativement la même décroissance néanmoins la souche F8 se démarque des autres par une augmentation entre 0,5g/l et 1,5 g/l. pour décliner enfin au-delà de cette concentration avec les autres souches, les stabilités de réaction sont plus ou moins différentes selon les concentrations tels que la souche F9, entre les valeurs de doses 1 et 1,5 ; la souche F8 à réagit à plusieurs intervalles de sensibilités à savoir 0 à 0,5 et 1,5 à 3 g/l (fig. 19).

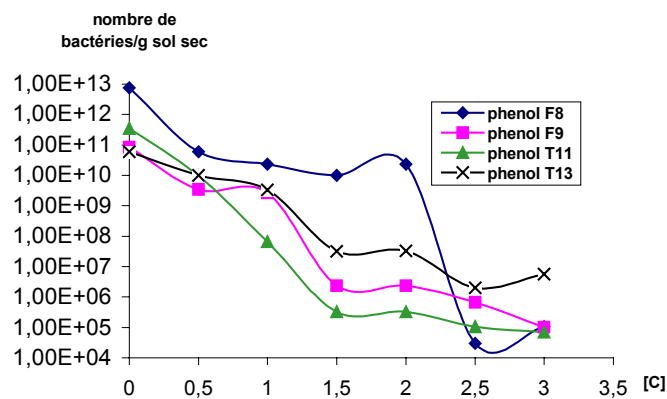


fig 18 : Tolérances des quatres souches sélectionnée aux différentes concentrations de phénol

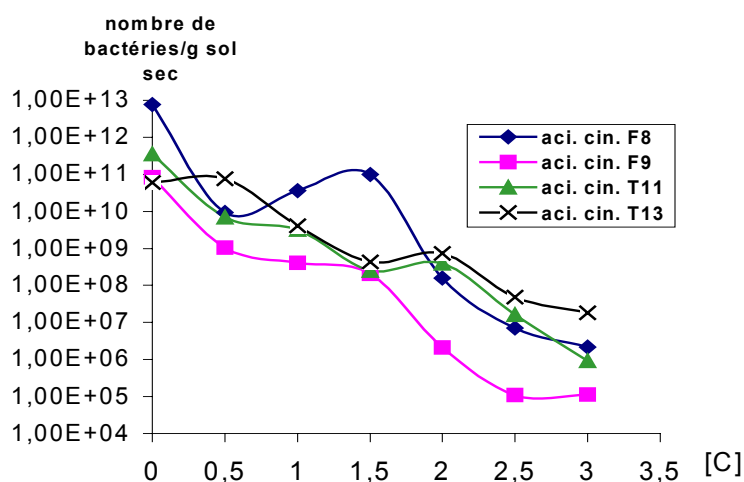


fig 19 : Tolérances des quatres souches sélectionnées aux différentes concentrations d'acide cinnamique

3.4. Etude de la cellulolyse

3.4.1. Activité Cellulolytiques sur substrats commercialisés :

L'expression de l'activité cellulolytique des souches testées est basée sur l'allure des courbes sur différents substrats.

Nous constatons que les quatre courbes ont une allure croissante (fig. 20, 21, 22, 23).

La F8 présente la plus grande activité sur le substrat CMC.

La F9 sur le coton et le papier tabac.

La T13 sur le coton.

La T11 n'a pas de substrat privilégié.

Les souches isolées, combinées deux à deux en cultures mixtes ont à peu près des activités cellulolytiques semblables sur tous les substrats fig.24 et 25.

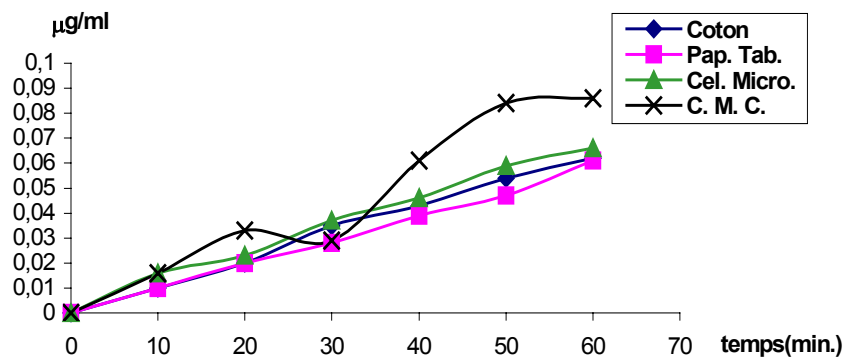


fig 20: Evolution de la cellulolyse de la souche sélectionnée F 8 sur substrats commercialisés en fonction du temps

Les souches isolées, combinées deux à deux en cultures mixtes ont à peu près des activités cellulolytique semblables sur tous les substrats Fig. 24 et 25.

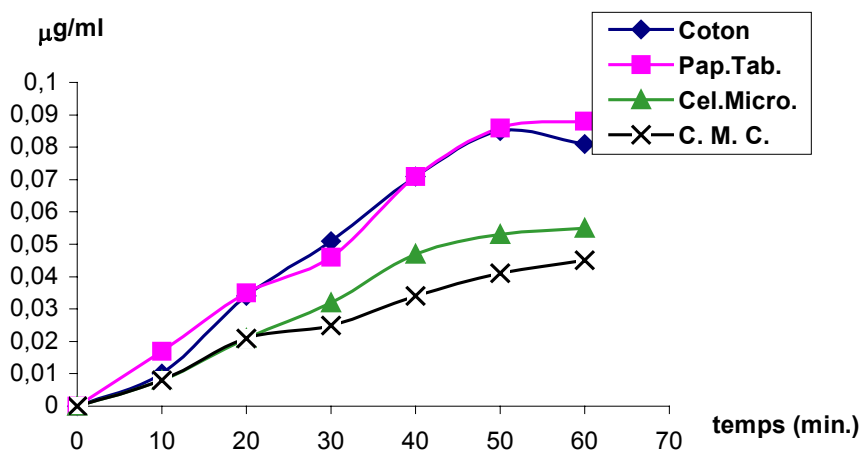


fig 21 : Evolution de la cellulolyse de la souche sélectionnée F9 sur substrats commercialisés en fonction du temps

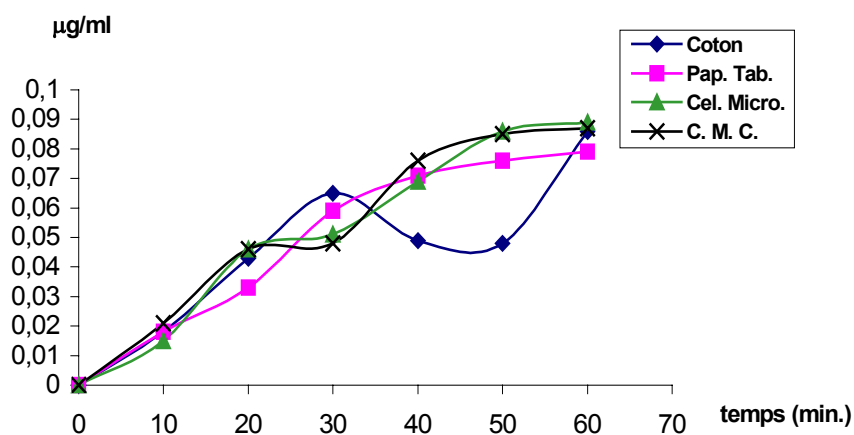


fig 22: Evolution de la cellulolyse de la souche sélectionnée T11 sur substrats commercialisés en fonction du temps

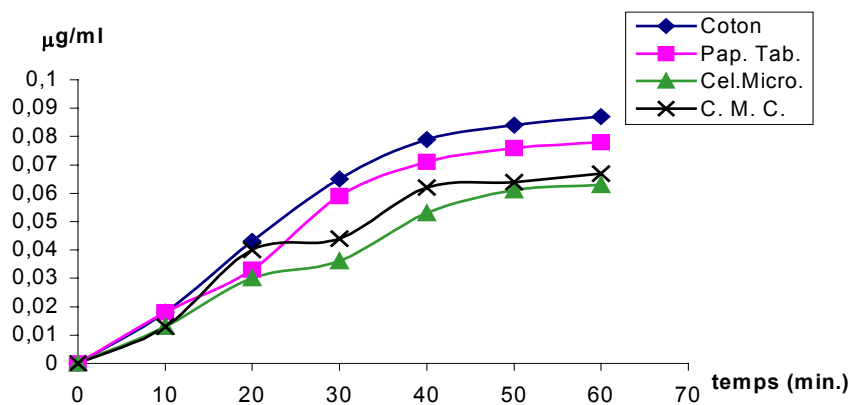


fig 23: Evolution de la cellulolyse de la souche sélectionnée T13 sur substrats commercialisés en fonction du temps

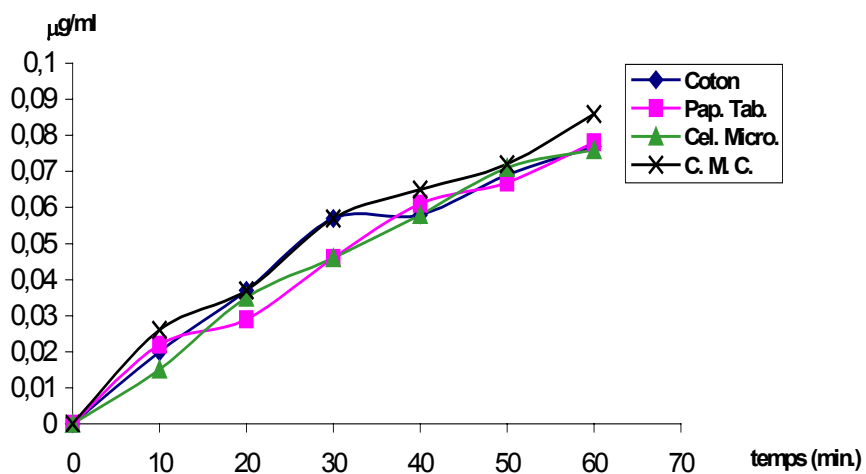


fig 24 : Evolution de la cellulolyse des souches sélectionnées F8 + F9 sur substrats commercialisés en fonction du temps

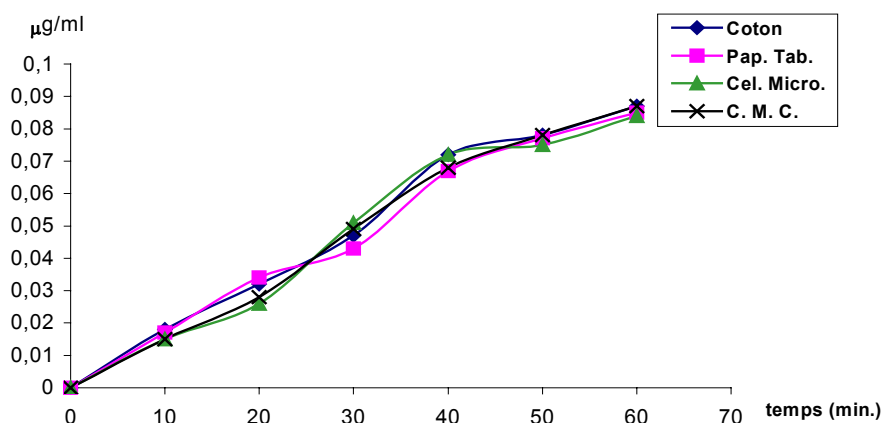


fig 25 : Evolution de la cellulolyse des souches sélectionnées T11 +T13 sur substrats commercialisés en fonction du temps

3.4.2. Activité cellulolytique sur substrats végétaux

D'après les résultats obtenus, (fig. 26) nous remarquons que toutes les souches isolées testées séparément, montrent une activité efficace et nette sur la cellulose, utilisée comme témoin. L'activité sur substrat à base de tiges est supérieure à celle sur un substrat à base de feuilles.

En ce qui concerne les cultures mixtes, F8 + F9 est plus active sur les tiges que sur le reste, alors que T11 + T13 n'a aucune activité sur les feuilles.

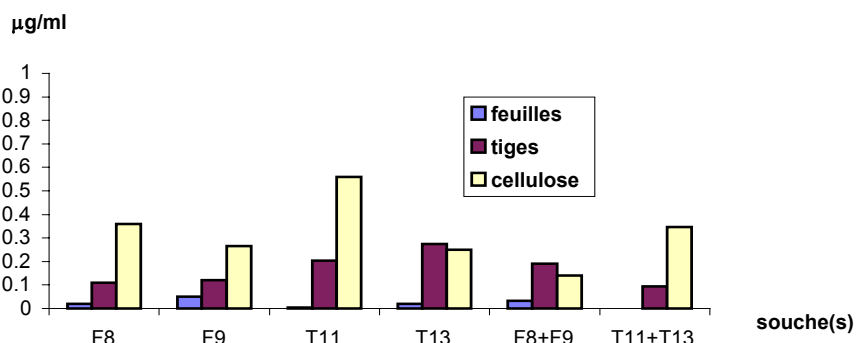


fig26: Evolution de la cellulolyse des souches sélectionnées sur substrats végétaux

3.5. Caractérisation des souches isolées.

Les différents tests d'identification et caractérisation de différentes souches sélectionnées comme cités précédemment sont regroupés dans le Tableau3.

3.6. Essais d'identification

D'après la classification selon Bergey 2000 nous avons procédé à une caractérisation et identification préliminaire de nos souches isolées à partir des amendements par les feuilles ainsi que les tiges.

3.6.1. Les souches F8 et T11

Elles peuvent être alliées à la section 13 du volume II qui contient presque toutes les bactéries Gram positif formatrice d'endospore. Les endospores bactériens sont intracellulaires rondes ou ovales ; elles ont une structure complexe avec une tunique, un cortex et une membrane interne entourant le protoplaste, elles contiennent de l'acide dipicolinique, très résistantes à la chaleur et peuvent rester dormantes et viables pour de très longues périodes et restent les bactéries les plus distribuées et principalement des habitants du sol.

Les conditions du sol sont souvent extrêmement variables et les endospores favorisent évidemment la survie durant les périodes de sécheresse ou de manque d'éléments nutritifs.

Les genres les plus importants (et les plus soupçonnées dans notre cas) sont : *Bacillus* et *Clostridium*.

3.6.2. La souche T13 :

Isolées à partir du sol amendé par la poudre de tiges, seront alliées à la section 15 du vol II. Elles présentent les caractéristiques des bacilles Gram positifs irréguliers non sporulants, ces bactéries possèdent un métabolisme aérobie facultatif, elles sont droits légèrement incurvés, possèdent le plus souvent des renflements en forme de massue, ou d'autre forme. Les genres les plus représentatifs sont: *Corynebacterium*, *Arthrobacter* et *Actinomyces* ; mais notre souche présente un rapprochement beaucoup plus à *Arthrobacter* son caractère le plus distinctif est un cycle de développement bacille-coque à 25°C (cas de *A. globiformis*). En phase de croissance exponentielle, les *Arthrobacter* sont des bacilles irréguliers ramifiés et peuvent se diviser par cassure. Lorsqu'elles entrent en phase stationnaire, les cellules prennent une forme coccoïde. Transférées dans un milieu frais les cellules coccoïdes produisent des excroissances et forment à nouveaux, des bâtonnets en croissance active.

Bien qu'en les isole du poisson, des eaux usées des surfaces végétales. L'habitat majeur des *Arthrobacter* est le sol dans lequel il constitue un composant important de la flore microbienne. Ils sont bien adaptés à cette niche car ils sont très résistants à la dessiccation et au manque de nourriture. Ce genre est particulièrement souple d'un point de vue nutritionnel, il peut même dégrader certains herbicides et pesticides, ils sont probablement importants dans la minéralisation de molécules organiques complexes.

3.6.3. La souche F9

Isolée à partir du sol amendé par les feuilles et qui ont eu une réaction négative à la coloration de Gram ; elles se situe dans le volume 1 de la section 3, regroupant les bactéries Gram négatives incurvées, non mobiles ou rarement mobiles. Ces bactéries sont répandues dans les sols, les milieux d'eau douce et marins, toutes les espèces connues sont libres.

Actuellement beaucoup de ces bactéries sont placées dans la famille des *Spirosomaceae* avec 3 genres : *Spirosoma*, *Runella*, *Flectobacillus*. Les bactéries résistantes forment quatre autres germes ; *Microsystus* est le mieux étudié, se développant sous la forme d'anneau et possèdent parfois des vacuoles gazeuses pour lui permettre de flotter.

4. Discussion et interprétation

4. Discussions et interprétations

4.1. Discussions

Les matières organiques augmentent la fertilité du sol c'est-à-dire elles améliorent à la fois sa qualité physique, chimique et biologique (Soltner D.1988).

Il existe plusieurs facteurs intervenant dans la dégradation de la matière organique, car elle est conditionnée par sa composition chimique ainsi que les conditions physico-chimiques du milieu, tels que l'aération, l'humidité le pH, l'Oxygène ainsi que le rapport C/N.

Vu l'étroite relation entre les différents composants de la matière organique. La connaissance du rapport C/N peut éviter soit le gaspillage de la matière fertilisante, soit l'appauvrissement de l'amendement en éléments essentiels pour la fertilité du sol.

4.1.1. Minéralisation du carbone

4.1.1.1. Taux de minéralisation du carbone par respirométrie

Dans le but de suivre la minéralisation du carbone total dans le sol, nous avons représenté les résultats de la minéralisation par un taux en fonction de la respiration ; fig. 27. Ces courbes expriment une allure croissante dès le premier jour d'incubation, atteint rapidement un maximum dans la première semaine, pour le sol traité par les tiges et surtout pour le sol non traité.

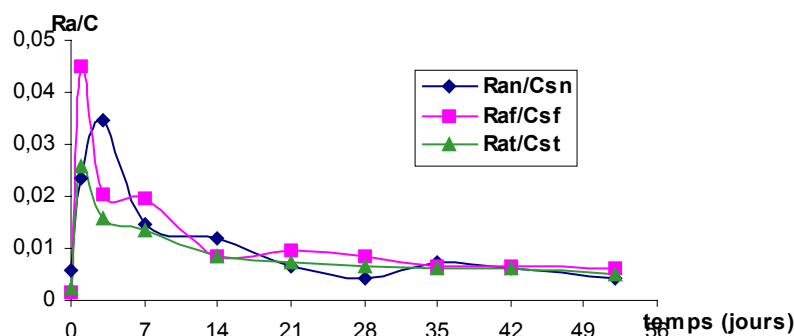


fig 27 Estimation du taux de minéralisation du carbone par respiration aérobique par rapport au carbone total en fonction du temps

Quant au sol traité par les feuilles nous notons une plus intense et plus rapide minéralisation. Cette intensité se montre fluctuante pour le sol témoin et le sol traité par les feuilles.

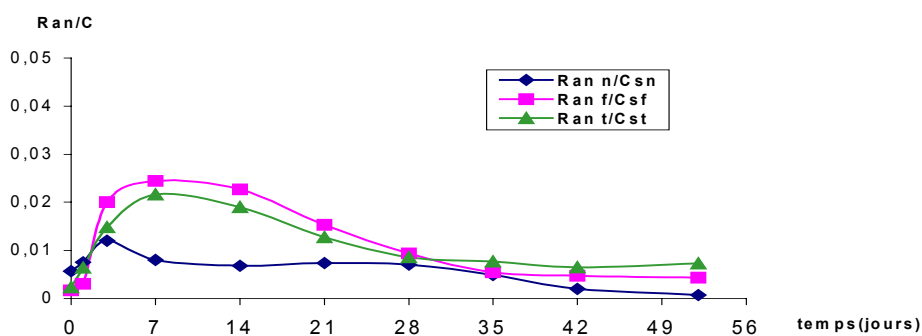


fig 28 :Estimation du taux de minéralisation du carbone par respirométrie anaérobie par rapport au carbone total en fonction du temps

En anaérobiose (Fig. 28) l'intensité respiratoire est beaucoup plus lente et plus réduite que celle de l'aérobiose. La minéralisation du sol témoin a tendance à se stabiliser voire légèrement croissante.

4.1.1.2. Taux de minéralisation du carbone de la plante

Pour avoir une idée du taux de minéralisation des feuilles et des tiges séparément, nous avons procédé à soustraire le taux du carbone du sol témoin de celui traité par les feuilles d'une part et d'autre part de celui traité par les tiges.

Ce calcul a été fait pour les différentes phases de l'incubation (1^{er}, 3^{ème}, 7^{ème}, 14^{ème}, 21^{ème}, 28^{ème}, 35^{ème}, 42^{ème} et 52^{ème}). Ces résultats exprimés sur les figures 29 et 30 montrent une forte activité respiratoire dans la première semaine, puis l'intensité diminue rapidement et tend à se stabiliser. Bachelier G. (1968) explique ce phénomène d'augmentation par le fait du séchage du sol à l'air avant amendement et humidification.

Ce dégagement de CO₂ moins intense dans le sol mis en anaérobiose qu'en aérobiose, paraît dépendant non seulement de la teneur en carbone, immédiatement minéralisable, mais aussi de la teneur en carbone total, susceptible de devenir facilement minéralisable dans le temps d'incubation (Dommergues Y. & al. 1978), ce qui explique les fluctuations du quotient de minéralisation.

En comparant les deux échantillons traités par les feuilles et les tiges nous pouvons dire que cela pourrait être dû à la structure et la composition en matière organique dans les différentes parties de la plante. Nous observons une nette contribution à la respirométrie par les tiges qu'elle soit en aérobiose ou en anaérobiose, ce qui laisse supposer l'intervention de la forte teneur en cellulose chez les tiges que chez les feuilles.

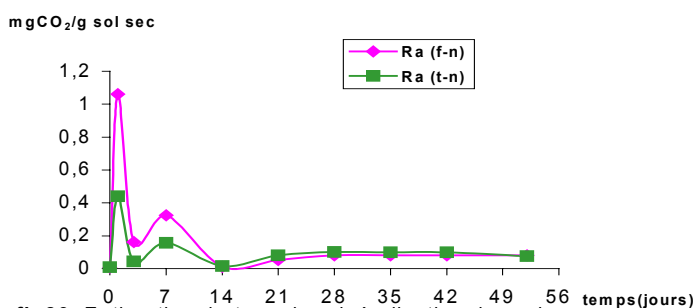


fig 29 : Estimation du taux de minéralisation du carbone par respiration aérobique par rapport au carbone apporté par l'amendement, en fonction du temps

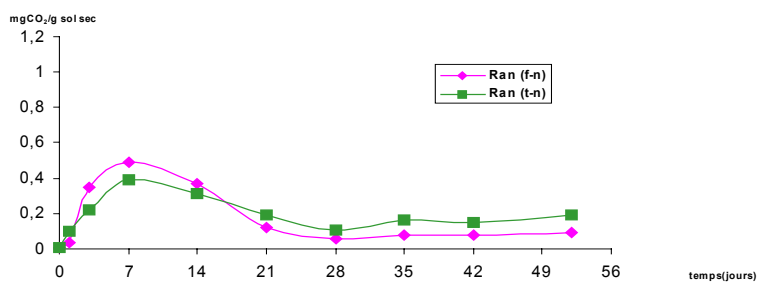


fig 30 : Estimation du taux de minéralisation du carbone par respirométrie anaérobique par rapport au carbone apporté par l'amendement en fonction du temps

4.1.2. Devenir de l'azote apporté par l'amendement

Afin de pouvoir montrer l'effet de l'amendement sur la minéralisation de l'azote; deux comparaisons ont été faites; l'une intra-traitement (même sol) et l'autre inter-traitement (sols différents). Cette méthode permet de montrer quel est le traitement le mieux favorable à une minéralisation efficiente, ammoniacale ou nitrique dans les feuilles ou bien dans les tiges.

4.1.2.1 Comparaisons intra-traitement

Dans le sol traité par les tiges nous constatons que la production d'ammoniaque est nettement plus élevée que celle des nitrates et des nitrites regroupés, du début de l'incubation jusqu'à la 4^{ème} semaine. A partir du 28^{ème} jour une remarquable nitrification s'enregistre au dépend de l'ammoniaque (fig.31)

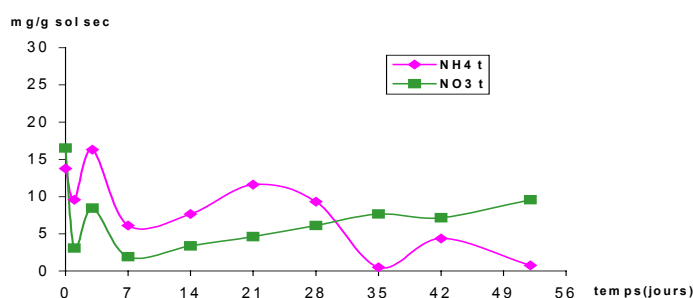


fig 31: Evolution de la production de l'azote ammoniacal et nitrique dans les tiges

Quant au traitement par les feuilles, nous remarquons deux courbes à allure presque opposée :

-Après une chute d'ammonification durant 24 heures, nous notons une remarquable ammonification qui atteint un maximum au 14^{ème} jour, puis une diminution progressive jusqu'à la fin de l'incubation.

-Contrairement à l'ammonification, la nitrification décroît jusqu'au 7^{ème} jour pour devenir relativement stable (Fig. 32)

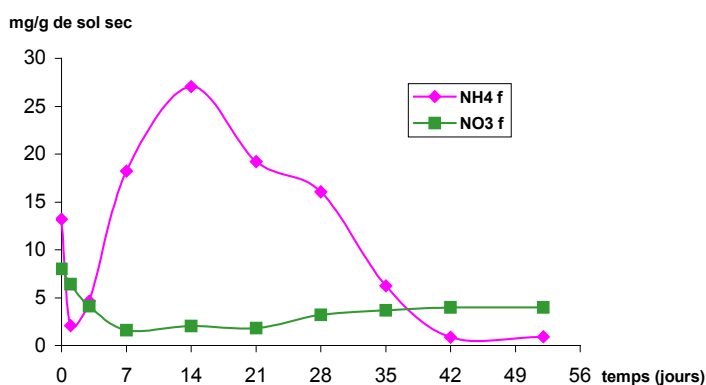


fig 32: Evolution de la production d'azote ammoniacal et nitrique dans les feuilles

4.1.2.2. Comparaison inter-traitement

La comparaison inter-traitement nous fait apparaître qu'il y a production élevée d'ammoniaque à partir de l'azote des feuilles que celui des tiges mais tendent tous les deux à se confondre à partir du 42^{ème} jour jusqu'à la fin de l'incubation (fig.33).

Pour la nitrification de l'azote, il est remarquable que les tiges y participent mieux que les feuilles, surtout à partir du 7^{ème} jour où un parallélisme s'établit entre les tiges et les feuilles (fig.34).

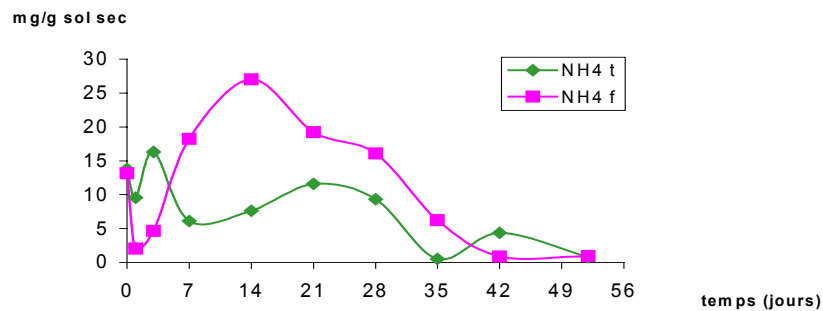


fig 33 : Comparaison des taux de production d'azote ammoniacal par les feuilles et les tiges

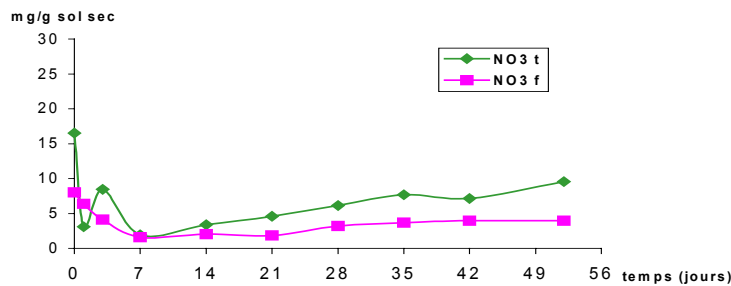


fig34 : Comparaison des taux de production d'azote nitrique donné par les feuilles et les tiges

En résumé:

-Dans les tiges l'ammonification décroît et la minéralisation croit (fig. 31). La nitrification dépasse l'ammonification à partir du 29^{ème} jour. Ceci s'expliquerait par un dessèchement lors de l'incubation.

-Dans les feuilles l'ammonification est plus importante que la minéralisation, mais elle décroît fortement tout au long de l'incubation. La minéralisation a une légère tendance à accroître (fig. 32) ; cette figure met en évidence la disparition de l'azote organique à la fin de l'incubation. Les feuilles seraient donc plus minéralisables que les tiges.

-En général l'ammonification est plus importante dans les feuilles que dans les tiges. A partir du 42^{ème} jour l'inverse se produit. Mais dans les deux cas les courbes ont une allure décroissante (fig.33).

-La nitrification est croissante aussi bien dans les tiges que dans les feuilles mais quantitativement elle est plus importante dans les tiges (fig. 34), même si les feuilles sont plus minéralisables que les tiges, ces derniers produiraient plus de NO₃ que dans les feuilles.

La figure 31 révèle une nitrification dépassant l'ammonification à partir du 29^{ème} jour ; ceci s'expliquerait peut être par un dessèchement parvenu lors de l'incubation.

La figure 32 met en évidence uniquement la nitrification à partir du 42^{ème} jour. Ceci voudrait dire qu'à la fin de l'incubation il ne reste plus d'azote organique. Les feuilles sont donc plus minéralisables que les tiges alors que ces dernières produisent beaucoup plus de nitrates que les feuilles.

4.2. Interprétation

Poirson *et al.* 1986 confirment qu'il peut y avoir une répartition hétérogène dans les organes et supposent une participation d'acides aminés non protéiques dans le transport de l'azote ainsi que des écarts de concentrations importantes sont décelés le long des tiges.

La transformation de l'azote total en azote minéralisé, sous forme d'azote ammoniacal, nitreux et nitrique, peut contribuer comme c'est le cas pour le carbone, à la détermination du C/N dans le sol, car pour un taux de C/N > 25 à 35 la nitrification est faible. Avec une faible quantité de carbone et une forte quantité d'azote, les ammonificateurs épuisent rapidement le carbone disponible ; les autres germes n'ayant plus de carbone à leur disposition ne pourront proliférer et par conséquent réutiliser l'ammoniaque pour leur synthèse protéique ce qualifiera les tiges comme une bonne source d'amendement organique par rapport aux feuilles qui restent faibles en carbone et riches en autres éléments (Richter G., 1993).

Avec un C/N fort, la quantité de carbone est faible, le rendement est faible, parfois nul et ce n'est qu'à la longue qu'il se traduit par une augmentation du taux des nitrates : la quantité d'ammoniaque lentement libérée et réutilisée par les hétérotrophes. Pour une bonne cellulolyse, l'azote sera donné sous forme nitrique (Duchaufour Ph.1966), alors qu'elle peut s'arrêter totalement dans les sols acides en stade ammoniacal (Dommergues Y. & al. 1978).

Donc il existe une corrélation entre la nitrification et la minéralisation de la matière organique, c'est à dire que plus il y a de minéralisation plus il y a de nitrification qui passe le plus souvent par l'ammonification (Demelon A.1966) ; Quant à l'accumulation de l'ammoniaque au début de l'étude, cela peut être interprété, soit par la forte teneur en azote minéralisable dans les différentes parties de la plante (feuilles et tiges) soit dans des conditions exceptionnelles où la nitrification se trouve bloquée. (Djellali N. 1981)

Le pH peut être à son tour un facteur influençant car le milieu acide favorise l'accumulation de l'ammoniaque (Hassink J. & al.1993). Ainsi Bachelier G. (1968) note un maximum de pH favorisant la nitrification à 6 ce qui n'est pas notre cas, car les différentes mesures de pH enregistrent un pH compris entre 6 et 8 (fig.9). On peut également expliquer le phénomène d'accumulation de la manière dont l'a fait Demelon A (1966), cette accumulation peut être provoquée par la présence de quantités notables de glucides, aussi quand le rapport C/N diminue, car le cas des substances organiques incorporées dans le sol, C/N peut donner une idée sur l'évolution de l'azote total (Poirson & al. 1986).

D'une autre part, si les composés ammoniacaux n'existent dans la plante qu'en très faible quantité, on y trouve toujours une proportion de nitrate plus ou moins importante.

Les tiges des végétaux sont le siège principal de production de nitrate (Datta M. & al., 1989), la quantité diminue en fonction du temps ; plus la plante avance en âge, plus les proportions en cellulose augmentent et le taux d'azote diminue et plus le rapport C/N augmente.

L'azote n'existe pas dans la plante uniquement sous forme protéique mais également à l'état de composés plus simples, constituants des intermédiaires entre les composés azotés minéraux absorbés et les substances protéiques de synthèse (Ahrens Von. C. 1976).

Dans les organes végétaux tels que les feuilles, on trouve à côté des nucléoprotéines présentes dans les chloroplastes ou le cytoplasme 20 à 40 % de l'azote sous forme soluble, en grande partie à l'état de composés aminés et amidés dont les plus importants quantitativement sont l'asparagine et la glutamine (Rapin P., 1996).

Le groupement $-NH_2$, présent dans les acides aminés proviendrait soit de l'ammoniac (NH_3 , soit de l'hydroxylamine NH_2OH résultant de la réduction des nitrates. Lorsque la feuille se

détache de la plante, ses protéines subissent rapidement une décomposition hydrolytique, l'ammonification n'a pas un caractère brutal, explosif, c'est un processus qui a son temps d'incubation, sa phase ascendante, sa phase descendante ; celle-ci se poursuit très longtemps. Le maximum est d'autant plus précoce que la substance est moins complexe (urée par ex); avec les tissus végétaux, au contraire, comme la farine de soja ou la poudre de trèfle, le dégagement d'ammoniac est plus tardif et moins accentué (Ponge et Vannier, 1996).

4.2.1. Evolution des Bactéries

En général apparaissent d'abord des bactéries sporulées, non sporulées et des cocci ; vers le 2^{ème} ou le 3^{ème} jour, les actinomycètes entrent en action et prennent une extension considérable ; cette succession correspond à la phase croissante de dégagement d'ammoniac ; puis les moisissures envahissent la plaque vers le 4^{ème} jour et cette date correspond le plus souvent au début de la phase décroissante. Il est vraisemblable que les moisissures utilisent pour leur synthèse protéique l'ammoniac qui se forme, il a été dit que le rendement était seul mesurable (Duchauffour, 1973).

Dans le cas de la dégradation naturelle, il s'agit non seulement d'un effet purement chimique; mais aussi d'une adaptation biologique, comparable à des cas de parasitisme, qui doit entrer en jeu pour l'attaque de corps organisés insolubles à structure complexe.

La conclusion s'impose que les auteurs n'ont réussi à isoler que quelques commensaux des ferments aérobies de la cellulose soit des représentants de la flore, dites secondaires qui accompagnent toujours les microbes spécifiques ; tandis qu'ils vont complètement échouer dans leurs recherches de vrais ferments (Charpentier, 1968).

Le papier immergé dans une solution minérale subirait une dégradation, mais ensemencé en strie sur du papier étendu sur gélose, le microbe n'y donnerait aucune culture. En suivant ces recherches, toujours au moyen de la même méthode, nous nous sommes assurés bientôt de la multiplicité des bactéries aérobies ayant pour fonction, la dégradation de la cellulose et nous en avons distingué provisoirement les *Cytophaga* et le *Vibrio* (Winogradsky, 1927).

Les champignons dégradent 20 à 40 % de la matière organique, les bactéries 2 à 10% (Alexander, 1982), ce qui explique l'arrêt ou le ralentissement de la dégradation au bout de sept jours d'incubation (40% des feuilles et 30% des tiges), ce qui représente encore le surplus de la matière végétale apportée par l'amendement par rapport au témoin.

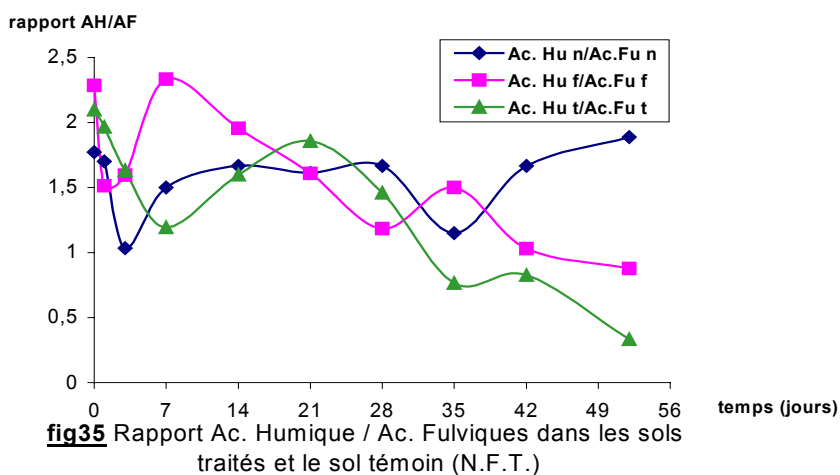
Au terme de cette expérience, nous constatons d'une manière générale que l'évolution de la matière organique prend une allure décroissante, rapide à partir du jour de l'humidification (J=0), se poursuivant jusqu'au septième jour, cette constatation se voit surtout dans les résultats de la minéralisation de l'azote, ainsi que le rapport C/N.

Dominique Soltner (1988), note que les matières organiques subissent au contact du sol une série de transformations rapides, qui agissent d'une manière directe sur la vie du sol, notamment les micro-organismes ; alors que les acides humiques maintiennent des quantités constantes seulement lorsqu'il s'agit d'un apport permanent et continu, ce qui explique la baisse constatée dans nos résultats qui pourrait être due à l'apport unique de matière organique au début de l'expérience ; comme peut avoir l'humidification un effet dans ce sens. (Duchauffour Ph., 1982; Foth H.D. 1978). Ces humus vont subir eux aussi le même phénomène de dégradation comme celui de la matière organique fraîche ; seulement la différence pourrait résider dans la rapidité de cette dégradation, car l'humus proprement dit est une mauvaise source de carbone ; d'une autre manière cet humus donne lieu à la formation d'acides fulviques facilement dégradables (Demelon A.1966).

Les acides fulviques s'accumulent sous l'action de micro-organismes dans les sols amendés, ce qui explique la baisse constatée dans le sol témoin, comme cela peut être dû à l'effet du séchage du sol avant son utilisation (Bachelier G. 1966).

Parmi les critères de caractérisation globale de la matière organique, d'un sol ou d'un horizon, on définit généralement le taux d'extraction (Duchauffour Ph. et Jacquin, 1966 ; Gaucher et al. 1978) le taux d'humidification ainsi que le rapport acides fulviques / acides humiques (Duchauffour Ph. 1983). Dans les trois sols étudiés, ce rapport montre des fluctuations plus ou moins régulières et variables, entre 0,43 et 0,97, jusqu'à la 4^{ème} semaine, où le sol traité par les tiges se distingue par une rapide augmentation de ce rapport et cela jusqu'à la fin de l'incubation (fig.35). Quant aux autres sols, ce rapport prend une allure linéaire à partir de la cinquième semaine, il augmente pour le sol traité par les feuilles et baisse dans le sol témoin.

Les acides fulviques s'opposent aux acides humiques par leur maintien en solution au pHs inférieurs à 2,5. Chiminade R. et al. 1970 observent que les acides fulviques peuvent se transformer en polycondensats présentant les propriétés des acides humiques. Il s'agit aussi de dégradations chimiques des acides (Dommergues Y. et Mangenot F. 1970).



D'une autre part, comme les sucres constituent des substances énergétiques pour la vie microbienne ; les extraits de sols renferment aussi, à côté des sucres libres de nombreux acides organiques de bas PM.

Le dégagement de CO₂ des sols est étroitement lié à leur teneur en « sucres libérés » (Bachelier G. 1968).

A côté de leur rôle d'aliments énergétiques de la microflore, les glucides peuvent aussi avoir, dans le sol une réaction spécifique sur une fonction bactérienne définie et participe ainsi directement au déterminisme de l'équilibre dynamique des sols. (Nakary-Setili T. et al. 1997)

Il existe une relation étroite entre le diagnostic foliaire et le diagnostic ligneux car au vieillissement les produits ligneux migrent vers les feuilles essentiellement. Ces lignines viennent ralentir plus ou moins la décomposition de la cellulose lorsqu'elles atteignent 15 % (Christensen Bent. T. 1985).

Afin de mettre au clair l'interprétation, nous allons comparer l'action cellulolytiques des souches sélectionnées ; individuellement puis regroupées, sur chacun des substrats. Alors nous remarquons que le comportement de chaque souche peut être différent selon le substrat utilisé et la culture ; pure ou mixte.

Toutes les souches agissent d'une manière générale sur le coton hydrophile, en particulier les souches isolées à partir du sol amendé par les feuilles ; F8 et F9, puis vient en seconde position le papier tabac, alors qu'en principe c'est la cellulose ainsi que la CMC qui devraient être attaquées en premières (Chetouane M. 1986), étant donné qu'il s'agit de bactéries Cellulolytiques de premier ordre.

La souche F8 s'est démarquée dans son étude à la résistance au phénol et à l'acide cinnamique.

Les composants dans le système plante/sol, ayant les plus faibles rapports C/N, les plus riches en substances nutritives sont la matière organique du sol, les micro-organismes, les insectes et les autres animaux (Adam M.W.W.,1993). Les micro-organismes, en plus de leur contribution aux niveaux nutritifs du sol, ils jouent des rôles importants en décomposant la matière végétale qui sans les micro-organismes elle s'accumule dans l'environnement (Léonard A.,1990).

Dans les sols, la phase solide (composés organiques et inorganiques) domine et la plupart des sols, avec quelques exceptions importantes sont essentiellement aérobie (Prescott et al., 1995). Le sol constitue un environnement unique pour les micro-organismes, les conditions de vie varient fortement avec les différences des caractéristiques et de conditions environnementales des sols.

Il faudra noter ainsi que le sol contient également d'autres organismes que les bactéries et les mycètes, comme les protozoaires, des insectes, des nématodes et des animaux.

Les populations microbiennes des sols peuvent être très importantes dans un sol superficiel (s'approche de 10^8 à 10^9 cellules/ g de matière sèche) (Roussos S. et al. 1991).

Les bactéries Gram positif qui sont présentes à des degrés variables de développement une partie importante et peu étudiée de la communauté microbienne du sol. Parmi elle il y a les corynébactéries, les nocardioformes et les actinomycètes.

Les bactéries jouent alors comme nous l'avons remarqué un rôle majeur dans la dégradation des matières végétales et de l'humus du sol.

La matière organique apportée augmente la microflore zymogène (ex : les membres du genre *Pseudomonas*) au détriment de la microflore autochtone, se développant sur la matière organique native (*Arthrobacter* et *Actinomycètes*). (Paerl H. W. 1984).

5. Conclusion générale

5. Conclusion :

L'étude de la dynamique de la matière organique introduite dans le sol nous a permis de nous faire une idée générale sur l'influence de l'amendement organique dans le sol (fèves: tiges et feuilles séparées, séchées et broyées). Ainsi nous avons pu constater que les différentes parties de la matière organique retournée au sol participent, chacun de son côté à un apport bien défini de substances et éléments essentiels, les feuilles dans l'apport en éléments volatils (azote et nitrates) les tiges en éléments carbonés (sucres et substances carbonées).

Au cours de ce travail nous avons expérimenté dans un premier temps l'évolution de la matière organique dans le sol en fonction du temps et à une température constante, dans la dégradation de la fève ajoutée à 10 g dans 100 g de terre.

Cette contribution de la minéralisation de la matière organique de *Vicia faba* a nécessité une longue méthodologie à savoir; le prélèvement de sol, du matériel végétal, des analyses physico-chimiques du sol et de la plante, des analyses microbiologiques et biochimiques avec essais d'identification de quelques souches bactériennes.

Il ressort de cette étude que la cellulolyse est beaucoup plus importante dans les substrats à base de tiges que dans les substrats à base de feuilles. Ceci s'expliquerait par une teneur en cellulose plus élevée dans les tiges que dans les feuilles et inversement pour la teneur en azote minéral.

Aussi, nous avons dénombré une population plus importante de microbes aérobies dans les tiges que dans les feuilles ; Par contre le nombre important de microbes anaérobies est observé dans les feuilles.

Par ailleurs les amendements organiques restent les plus efficaces et de meilleur rendement agricole que les substrats commercialisés. Concernant la cellulolyse, les différentes souches testées en cultures pures ne présentent pas de différences cellulolytiques. Par contre leur regroupement par binôme donne une activité cellulolytique importante, ceci montre le rôle important de la symbiose. Pour l'identification de souches une étude biochimique s'avère nécessaire.

Compte tenu de sa biodégradabilité et de sa grande culture parmi les légumineuses en Algérie, la fève pourrait avoir un intérêt particulier dans l'amendement organique des sols agricoles afin d'augmenter leur fertilité, sa teneur en flavonoïdes stimulant de nodulation dans le cadre de la fixation symbiotique de l'azote moléculaire pour les cultures suivantes (POIRSON A. LAHRER F. 1986 RICHTER G.1993); le sol peut être heurté à la disponibilité de l'eau car la matière organique retournée au sol provoque une soif hydrique, en modifiant la pression hydrostatique et influençant le point de flétrissement et ralentir ainsi le rôle important de la microflore tellurique du cycle du carbone (en particulier).

Pour finir, il importe de signaler que les difficultés matérielles ne nous ont pas permis d'approfondir ce travail dans certains sens. Il aurait été en particulier intéressant de réaliser parallèlement à cette étude, un travail *in situ* afin de voir l'influence du climat et des conditions naturelles sur la dégradation ou bien procéder à une comparaison du même amendement avec un autre sol.

6. Références bibliographiques

BIBLIOGRAPHIE

- AHRENS VON. C.** 1976. -Dynamique de la minéralisation de l'azote étudié sur quatre espèces de terre végétale transférée chacune dans une autre station. Essai climatique. Landwitsch Forsch Sonderch. 33 Kongreß land
- ALEXANDER M.**, 1982.- Soil Microbiology. Second Edition John Wiley & Sons, p 573
- ARY B., PROST R.** 1988- Analyse minéralogique quantitative d'un échantillon de sol, utilisation des données concernant la composition chimique de l'échantillon agronomique
Vol. 1 N° 8 p15-22 Ed INRA France
- ARPIN P., DAVID J. F., GUITTONNEAU G. G., KILBERTUS G., PONGE J. F., VANNIER G.** 1986. -Influence du peuplement forestier sur la faune et la microflore du sol et des humus.II
Microbiologie et Expérience au laboratoire. Rev. Ecol. Biol. Sol 23 (2) pp119-153
- AUBERT G.** 1977. - Méthodes d'analyses des Sols.
Centre National de Documentation Pédagogique. C. R. D. P. Marseille.
- BACHELIER G.** 1966. - Dosage en série du carbone minéralisable (notice technique).Cah. ORSTOM, SER. Pédol., IV (2), p 99-101
- BACHELIER G.** 1968. - Contribution à l'étude de la minéralisation du carbone des sols.
ORSTOM, Mémoire N°30
- BALLAND D.** 1980- A quoi sert l'analyse du sol. Perspectives agricoles ; Ed Société le PAF-PARIS N° 43 p42-71.
- BALLAND D.** 1984- Les prélèvements pour analyses des sols, c'est le moment de les faire p21-27
Perspectives agricoles N°79. Ed Société le PAF- PARIS
- BERGERY'S** 2002- Manual of Systematic Bacteriology.
- BOIGONTIER D.** 1982- Matière organique, simplification du travail du sol et navigation.
Perspectives agricoles ; N°64 p 16-43. Ed Société LE PAF-PARIS.
- BOULARD B., MOREAU R.** 1962. - Sol, microflore et végétation. Equilibres biochimiques et concurrence biologique. Collection Evolution des Sciences. Masson et Cie. Ed Paris
- BOYELDIEU J.** 1991. - Produire des graines oléagineux et protéagineux. Agriculture d'aujourd'hui. Sciences Techniques, Applications. Collection dirigée par P. MOATTI LAVOISIER Tec. & Doc.
- BREUIL C., SADDLER J. N.** 1985. - Comparison of the 3,5-dinitrosalicylic acid and Nelson-Somogyi methods of assaying for reducing sugars and determining cellulase activity
Enzyme Microbiol Technol. Vol. 7 pp. 327-332
- BRINK R. H., BUBACH J. R. P. LYNCH P. C.** 1960. - Measurement of Carbohydrats in soil
Hydrolysats with anthrone. Soil, Sc.89, (3) 315-316
- BROLL V. G.** 1985. - The microbial activity of abandoned meadows after different treatment.
Landwirtsch Forschung; 38, 1-2
- BROOKS J.** 1986- Rapport analytique basé sur 26 échantillons du sol de l'Algérie
Reçu en mai pp. 16-19
- BRUND A. et PROST R.** 1986. - Apport des méthodes d'enrichissement sélectives et des spectrométries à l'identification des constituants minéraux d'un échantillon de sol.
Agronomie . Vol. 6 N° 8 pp. 717-726. Ed. INRA France
- BUSTO M. D., ORTEGA N. MATEOS PERES** 1997. - Effect of immobilisation on the stability of bacterial and β -D-glucosidase. Process Biochemistry Vol. 32, N° 5 pp. 441-449
- CASIDA JR. L. E.** 1987- Technique for Estimating low Numbers of a Bacterial Strain(s) in soil
Applied and Environmental Microbiology Apr. p887-888 Vol.53 N°4
- CHAMINADE R. et al.** 1970. - Amélioration de la fertilité des sols en Afrique
FAO Rome Italy pp111
- CHAN M., BREUIL C., SCHWALD W., SADLER J. N.** 1989. - Comparison of methods for quantifying the hydrolytic potential of cellulase enzymes
Appl. Microbiol. Biotechnology. (31) p 413-418

- CHAPLIN M. F., KENNEDY J.** 1988- Carbohydrate analysis. A practical approach; IRL PRESS OXFORD WASHINGTON DC
- CHARPENTIER M.** 1968. - Dégradation de la Cellobiose dans le sol. Mécanisme cellulolytique. Annales de l'Institut Pasteur Vol.115, 497-537
- CHETOUANE M.** 1986. - Isolement et étude de souches de Streptomycètes Cellulolytiques provenant de sol de différentes régions d'Algérie. Mémoire de Magister U. S. T. H. B. Alger
- CHRISTENSEN BENT. T.** 1985. - Wheat and barley straw decomposition under field conditions effects of soil type and plant cover on weight loss, nitrogen and potassium content Soil Biol. Biochem Vol.17 N° 2 pp. 691-697
- CIZEK V.** 1967. - Effect of oxygen level on the humification of organic substances, in "studies about humus". B. NOVAK & V. RYPACEK éd., Trans. Int. Symp. "Humus et Plante IV", Prague, p179-181.
- DATTA MAD., SANTIGA P., HIREN P.** 2000. - Solid State Fermentation for Cellulases and β - Glucosidase Production by *Aspergillus niger*. Journal of Fermentation and Bioengineering Vol.67, N° 6, p424-426
- DAVET P.** 1996. - Vie microbienne du sol et production végétale Institut National de la Recherche Agronomique Paris
- DELOYE M., REROUR H.** 1958. - La conservation de la fertilité des sols. Ed Maison rustique. Paris pp161
- DELPHIN J. E.** 1986. - Evaluation du pouvoir minéralisateur des sols agricoles en fonction de leur caractéristiques Physico-chimiques. Agronomie Vol. 6 N° 5 p453-458. Ed INRA France
- DEMELON A.** 1952. - Principe d'agronomie Tome I Dynamique du sol. Ed Dunod Paris pp512
- DESCHAMPS F., GUILIANO C., ASTHER M., HUET M. C., ROUSSOS S.** 1985. - Cellulase Production by *Trichoderma herzianum* in Static and Mixed Solid State Fermentation Reactors Under Nonaseptic Conditions. Biotechnology and Bioengineering, Vol. XXVIII, pp1385-1388
- DJELLALI N.** 1981. - Contribution à l'étude des sols à Alfa (*Stipa tenacissima, L.*). Minéralisation de l'azote dans sol à Ain Ouessera (W. de Djelfa), effet du paillage sur ces activités. Mémoire de Majister U. S. T. H. B. Alger
- DOMMERGUES Y.** 1968. - Principe de méthodologie en Microbiologie du sol. Annales de l'Institut Pasteur Vol.115, N° 4 pp56 Rapport général.
- DOMMERGUES Y., MANGENOT F.** 1970. - Ecologie Microbienne du sol Ed Masson & Cie pp790
- DOMMERGUES Y.** 1973. - Principe de la méthodologie en microbiologie du sol in « nouveaux documents pour une étude intégrée en écologie du sol ». Ed. C.N.R.S., R. C. P. 40, Paris. pp13-30
- DOMMERGUES Y., BELSER L.W., SCHMIDT E. L.** 1978. - Limiting Factors for microbial Growth & activity in soil. Advances in microbial Ecology Vol. 2 Edited by M. Alexander. pp120-126
- DONALDS A. PHILLIPS, CECILLIA M. JOSEPH, PENNY R. HIRSCH** 1997. - Occurrence of Flavonoïds and Nucleosides in Agricultural soils. Applied and Environmental Microbiology Nov. Vol.63 P4573-4527
- DORA L., ALEX H. C. YU., JHON N. SADLER.** 1995.-Evaluation of Cellulase Recycling Strategies for the Hydrolysis of Lignocellulosic Substrates. Biotechnology and Bioengineering, 1995 Vol.45, pp328-336
- DUBOS R.,** 1928. - The decomposition of cellulose by aerobic bacteria. Journal of Bacteriology, Vol.15 N°4 p. 223-229
- DUCHAUFFOUR PH.,** 1966.- Stations, types d'humus et groupements écologiques. Rev. Forestière Française 484-494

- DUCHAUFFOUR PH., JACQUIN F.** 1966. - Nouvelles recherches sur l'extraction et le fractionnement des composés humiques. Bull. E. N. S. A., 8, 1-24
- DUCHAUFFOUR PH.** 1972. - Processus de formation des sols.
Ed. C. R. D. P. Nancy 1-184
- DUCHAUFFOUR PH.** 1973. - Action des cations sur les processus d'humification.
Sci. du Sol N°3. pp151-162
- DUCHAUFFOUR PH.** 1979. - Pédologie Tome I Constituants du sol. 512p. Edition Masson & Cie Paris
- DUCHAUFFOUR PH.** 1982. - Pédologie Tome II Pédogenèse et Classification. 491p
Edition Masson & Cie Paris
- DUFF SHELDON J. B.** 1986.- Evaluation of the hydrolytic potential of a crude cellulase from mixed cultivation of *Trichoderma reesei* and *Aspergillus phoenicis*
Enzyme Microb. Technol., Vol. 8 May
- DUFF SHELDON J. B.** 1987.- Effect of media composition and growth conditions on production of cellulase and β - glucosidase by a mixed fungal Fermentation
Enzyme Microbi. Technol., January, Vol.9
- ELLOUZ-CHAABOUNI S., HADJ-TAIEB N., MOSRATI R. and ELLOUZ R.** 1994.-
Preliminary assessment of *Penicillium occitanis* cellulase: A further useful system. Enzyme Microbi. Technol., Vol.16 p 12-15
- ELLOUZ-CHAABOUNI S., BELGHITH H., HASSAIRI I., M'RAD K. and ELLOUZ R.**
1995- Optimization of cellulase production by *Penicillium occitanis*
Appl. Microbiol. Biotechnol. (43) p 267-269
- EL RAYES E.** 1985.- Compost microflora and screening of fungi for cellulolytic capability
Arab Gulf Journal of Scientific Research. Vol.3 N°1 pp261-276
- FANG J., QU Y., GAO P.** 1997.- Wide distribution of Cellobiose- oxidizing enzymes in wood-rot fungus indicates a physiological importance in lignocellulosic degradation
Biotechnology Techniques, Vol. 11: N°3, March pp195-197
- FENG Y. MOTTA, REEVES D. W., BURMESTER, VAN SANTEN E., OSBORNE J. A.**
1963.- Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems.
Soil Biology and Biochemistry; volume 35, issue 12, pages -1703(December 2003).
- FOTH H. D.** 1978. -Fundamentals of soil sciences. 278pages.
Edition John Wiley & sons. Sixth Edition.
- GARDNER R. M., DOERNER K. C. and WHITE B. A.** 1987.- Purification and
Characterization of an Exo- β -1,4 Glucanase From *Ruminococcus flavefaciens*FD-1
Applied and Environmental Microbiology. P4581-4588 Vol.169 N°10
- GASPERIK J., HOSTINOVA E., ZELINKA J.** 1985.- Production of extracellular amylose by
Endomycopsis filuligera on complex starch substrates. Biologia (Bratislava); 40, 11, p1167-1174
- GASPERIK J., HOSTINOVA E., MINARIKOVA O., SOLDANOVA I., ZELINKA J.** 1988.-
Amylolytic enzymes produced by *Saccharomycopsis filuligera*
Biologia (Bratislava); 43, 8, 673-679
- GAUCHER G.** 1968.- Traité de Pédologie agricole, le sol et ses caractéristiques Agronomiques
Ed Dunod, pp: 578
- GHOSE T. K., PATHAK A. N.** 1987. - Cellulases-2: Applications. Process Biochemistry May 1973
- GHOSE T. K.** 1989. - Measurement of Cellulase Activities. International Union of pure and Applied Chemistry. Applied Chemistry division; commission on Biotechnology Pure & appl. Chem. Vol.59 N° 2 pp: 257-268
- GIORDANO L.** 1958.- Mise en valeur du sol. pp. :118 Ed Foucher

- GLOAGUEN J. C., TOUFFET J.** - Production de litière et apport au sol d'éléments minéraux dans une hêtraie atlantique. *Oecol. Plant.*, 1974, 9(1), 11-28
- GOTTEREUND J.** -Degradation of hydrocarbons in underground with enrichment with nitrate. *Forumstade-Hygiene* 36 1985 July/August
- GUCKERT A., CONN E. E.**, 1974. - Origine et devenir des polyssaccharides du sol. Rapport du 1^{er} Colloque international Nancy 1974 p 116-127
Université de Nancy. Laboratoire de Botanique et de Microbiologie
- GUEMMOURI S.**, 1992. - Isolement et caractérisation des souches de *Polymyxa* isolées de différents sols algériens. Thèse de Magister USTHB 111p.
- GUIGOU B., THONNELIER B.** 1984.- Que rechercher dans l'analyse des sols *in cultivar*, N°174; p84-87
- HAAPALA R., PARKKINEN E., SUOMINEN P., LINKO S.** 1985. - Production of extracellular enzymes by immobilized *Trichoderma reesei* in shake flask cultures
Appl. Microbiol. Biotechnol. 43: 815-821
- HAGEDORN F., SPINLER D., SIEGWOLF R.** 2003.- Increased N deposite retards mineralization of old soil organic matter.
Soil Biology and Biochemistry; volume 35, issue 12, pages 1683-1692 (December 2003).
- HALSALL D. M., GIBSON A. H.** 1985. - Cellulose decomposition and associated nitrogen Fixation by mixed cultures of *Cellulomonas gelida* and *Azospirillum species* on *Bacillus macerans*. *Applied and Environmental Microbiology* Vol.5 N° 4 PP 1021-1026
- HASSINK J. & al.** 1993. - Relationships between habitable pore space, soil biota and mineralization rates in grassland soils. *Soil Biology & Biochemistry* Vol.25, N° 1, pp. 47-55
- HAUSER G. F.** 1970. - Manuel pour les enquêtes des fertilités des sols, effectuées dans les champs des agricultures. p 1-66 Rome Italie
- HELOU M.** 1985. - Fatigue des sols. Plusieurs facteurs mises en causes perspectives agricoles. N° 95 p 36-41. Ed Sociétés le PAF Paris.
- HILLIER P., WASE D.A.J., EMERY A. N., SOLOMONAS G. L.** 1988.- Instability of α -amylase production and morphological variation in continuous culture of *Bacillus amyloliquefaciens* in associated with plasmid loss
- ICARDA 1988** - The management of soil water and nutrients p. 7-101 in Farm resource management program. Annual report for - ICARDA 131 Syrie.
- JOO H., CHAE H. J., YEO J. S., YOO Y. J.** 1997- Depolymerization of phenolic polymers using horseradish peroxidase in organic solvent. *Process Biochemistry* Vol.32, N° 4, pp 291- 296
- KACI Y.**, 1988. - Dénombrement, isolement purification et essais de caractérisation de quelques souches bactériennes fixatrices d'azote, associées au blé dur.
Thèse de Magister USTHB Alger 145p.
- KELLERMAN M. B., SCALES S.**1913-1914. - Identification of cellulose dissolving bacteria. *Centr. Bakt.* II, 39, p.502
- KEREK M., DRIJBER R. A., GAUSSOIN R. E.** 2003- Labile soil organic matter as a potential nitrogen source in golf greens.
***Soil Biology and Biochemistry*; volume 35, issue 12, pages 1643-1649 (December 2003).**
- KILBERTUS G. & MANGENOT F.** 1971. - Origine et composition des matières organiques impliquées dans la formation des agrégats organo-minéraux. *Colloques Internationaux du C.N.R.S.* N°303
- KITATSUJI K., MYATA H., FUKASE T.** 1996- Isolation of Micro-organisms that lyse filamentous Bacteria and Characterization of the lytic substance secreted by *Bacillus polymyxa*
Journal of fermentation and bioengineering and Bioengineering Vol.82, N° 4. pp 323-327

- KLAPPACH G., KERNS G., POLTER E.** 1982- Production and Characterization of Cellulase Food Industries and the Environment. Int. Symp., Budapest, Hungary.
- KOSINKIEWICZ** 1974- Humus like substances produced by bacteria (Part I)
Ability of *Pseudomonas sp* N°26 and N°4 to form humus like polymers.
Rapport du 1^{er} Colloque international Nancy.
Université de Nancy. Laboratoire de Botanique et de Microbiologie
- KUMAKURA M.** 1997- Preparation of immobilized cellulase leads and their application to hydrolysis of cellulosic materials
Process Biochemistry Vol.32 N° 7 (). pp 555- 559
- LADISCH M. R., WAUGH L., WESTGATE P; KOHLMAN K., HENDRICKSON R., YANG Y., LADISCH C.** 1992. - Intercalation in the pre-treatment of cellulose. Conference proceeding serie Harnessing Biotechnology for the 21st century Proceeding of the ninth international Biotechnology symposium and Exposition.
Crystal City, Virginia p16 –21 August.
- LATIF F., RAJOKA M. I., MALIK K. A.** 1989- Short Communication: Production of cellulases by thermophilic fungi grown on *Leptochlora fusca* straw
World Journal of Microbiology & Biotechnology 11, 347 – 348
- LEJEUNE A.** 1988 - Characterization of Endoglucanase from *Pseudomonas fluorescens* subsp *Cellulosa* Produced in E. coli and Regulation of Expression of its cloned gene
Applied and Environmental Microbiology Feb. P302-308 Vol.54 N°2
- LEJEUNE A., EVELEIGH D. E., COLSON C.,** 1988. - Expression of an Endoglucanase gene of *Pseudomonas fluorescens* var. *Cellulosa* in *Zymomonas mobilis*
FEMS Microbiology letters 49 p363-366
- LEJEUNE R., BARON G. V.** 1995 - Effect of agitation on growth and enzyme production of *Trichoderma reesei*
Appl. Microbiol. Biotechnol.. 43 pp. 249- 258
- LINDEN J., SHIANG M.** 2001- Bacterial Cellulases : Regulation of Synthesis
Appl. Biochemistry. Biotechnology. 24, p34-52
- LIU J., SHEN X., GAO P.** - Short- Fibre formation during cellulose degradation by cellulolytic fungi. Biotechnology Letters Vol.18 N°11 Nov. 1999. p 1235-1240
- LUPO D.** - Changes in Endoglucanase Patterns during Growth of *Thermomonospora curvata* on Cellulose. Applied and Environmental Microbiology Feb. 1988. P588-589 Vol.54 N°2
- MANDELS M., WEBER J.** 1969- The Production of Cellulases
Symposium : Cellulases and their Applications
Sponsored : American Chemical Society Washington D. C.
Advances in Chemistry Series 95
- MANGENOT F.** 1974.- Propos lumineux sur l'humification
Rapport du 1^{er} Colloque international Nancy
Université de Nancy. Laboratoire de Botanique et de Microbiologie
- MEDRE J., STAHLBERG J., TJERNELD F.** 1994 - Adsorption and synergism of Cellobiohydrolase I and II of *Trichoderma reesei* during hydrolysis of Microcristalline Cellulose
Biotechnology and Bioengineering Vol.44 1064-1073.
- MEENTMEYER V.** 1984- The Geography of Organic Decomposition Rates
Annales of Associations of Americans Geographers, 74 (4). pp551-560
- MEZIANI R.** 1987. - Contribution à la caractérisation pédologique du sol de la station expérimentale de Oued Smar. Mémoire de D. E. S. ISN/USTHB Alger 37.p
- MICARD V., RENARD C. M. G. C., THIBAUT J. F.** 1996- Enzymatic saccharification of sugar-best pulp. Enzyme and Microbiol Technology 19 :162-170.
- MONNIER G.** 1965- Action des matières organiques sur la stabilité structurale des sols-I. Annales agronomiques Vol.16, N°4 pp327-400

- MORRIS D. L.** 1984. - Quantitative determination of carbohydrates with dry wood's anthrone reagents. Sciences, N, Y, 107 pp254-255
- MOURARET M.** 1965. - Contribution à l'étude de l'activité des enzymes du sol; l'asparginase, Cah. ORSTOM, SER. Pédol., V (2), p 113-121 Paris.
- MOUREAUX Cl.** 1972. - Influence du facteur microbiologique sur la solubilisation d'éléments minéraux à partir d'un sol ferrallitique malgache et à partir de biotite en présence de litière tropicales (Teck et Niaouli).
Rev. Ecol. Biol. Sol, IX, 3, 539-547.
- MURRAY W. D.** 1996- Cellulose Hydrolysis by *Bacteroides cellulosolvens*
Biomass 10. p47-57
- MYSKOW W., MORRISON R. I.** 1964. - Decomposition of leguminous plant roots in sand.
II- Humus formation.. J. Sci. Fd. Agric., Vol. 15 March
- MYSKOW W., RYBKA-WOZNIAKOWSKI A.** 1974- The rate of accumulation of free phenolic compounds during the transformation of plant material in sand as influenced by some environmental factors. Pages 352-357. Rapport du 1^{er} Colloque international Nancy. Université de Nancy. Laboratoire de Botanique et de Microbiologie
- NAKARI-SETILI T., PENTTILI M.** 1995- Production of *Trichoderma reesei* Cellulases on Glucose-Containing Media
Applied and Environmental Microbiology Oct. P3650-3655 Vol.61 N°10
- NAMSSAREV B.** 1985. - Distribution of cellulose-decomposing micro-organisms in bottom sediments of Indian Ocean. UDC 577.152.321:579,68(267), pp.801-807.
- NICOLARDOT B.** 1986- Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés.
III.-Approche cinétique et estimation simplifiée de l'azote facilement minéralisable
Rev. Ecol. Biol. Sol. 23 (3) pp 233-247
- ODIE E., ROUAU X.** 1985. - Les cellulases et les enzymes de la dépolymérisation de la lignine.
Biochimie Appliquée. Collection dirigée par Annette Mouranche et Claude Caston.
Edition Gauthier-Villars Bordas.
- PADMANABHAN S., KALLABINSKI J. RAMAKRISNA M., LONSANE B. K., KRISHNAIAH M. M.** 1992- Novel Enzymatic technique for starch from whole cassava chips without Mechanical pulverization. Biotechnology Techniques Vol.6 N°1 65 – 68.
- PAERL H. W.** - Alteration of microbial metabolic activities in associations with detritus
Bulletin of Marine Science 35 (3) 393-408 1984.
- PATHAK A. N., GHOSE T. K.** 1973- Cellulases –1: Sources, Technology
Process Biochemistry April.
- PEITERE N., MEDEIROS J., MANDELS M.** 1977- Adsorption of *Trichoderma* Cellulase on Cellulose. Biotechnology and Bioengineering Vol. XIX.
- PESSON P.** 1971-La vie des sols. Ed Gauthier-Villars p 471
- POCHON J., DE BARJAC H.** 1958. - Traité de Microbiologie du sol; Applications agronomiques. Ed Dunod Paris 685pages
- POCHON J. TARDIEUX P., D'AGUILAR J.** 1969. - Recherche sur les ressources naturelles
IX Biologie des Sols; C. R. Recherches UNESCO, Paris, 13-64
- POCHON J. TARDIEUX P.** 1962. - Techniques d'analyses en microbiologie du sol
Edition de la tourelle Saint-Mande 108 p
- POCHON J., TCHAN Y. T.** 1948. - Précis de microbiologie du sol
Edition Masson et Cie
- POIRSON A., LAHRER F.** 1986. - An assessment of the Potential of *Vicia faba minor* in storage of the L. form 3,4 Dihydroxyphenylalanine (DOPA).
Note Présentée par Duranton Henri C. R. Acad. Sc. Paris, t 303 serie III, N°10,

- POMETTO III A.** 1986.- Effect of pH on Lignin and Cellulose Degradation by *Streptomyces viridosporus*. Applied and Environmental Microbiology Aug. P246-250 Vol.52 N°2
- PRESCOTT HARLEY KLEIN 1995.** - Microbiologie
Edition De Boek Université 1014p (3^{ème} tirage)
- RASHID G. H. & SCHAEFER G** 1985. - The seasonal pattern of carbon dioxide evolution from two temperate forest "Catena" soils.
Rev. Ecol. Biol. Sol 22 (4) pp 419-431
- RASMUSSEN M. & al.** 1988. - Inhibitory Effects Methylcellulose on Degradation by *Ruminococcus flavefaciens*
Applied and Environmental Microbiology Aug. 1986. P890-897 Vol.54 N°4
- REYNOLDS P. H. S.** - Comparison of Cellulolytic Activities in *Clostridium Thermocellum* and three Thermophilic Cellulolytic Anaerobes
Applied and Environmental Microbiology Jan. 1996. P12-17 Vol.51 N°1
- RICHTER G.** 1993. - Métabolisme des végétaux. Collection Biologie; Production et adaptation Française de Gabrielle Raymond. Press Polytechniques et Universitaires Romandes
- ROBSON L. M., CHAMBLISS G.H.** 1989. - Cellulases of bacterial origin
Enzyme Microbiol. Technol. October Vol. 11
- ROSS D. J., TATE R. K., NEWTON P. C. D., CLARK H.** 2003- Carbon mineralization in organic soil, with and without added grass litter from a high-CO₂ environment at a carbon dioxide spring. Soil Biology and Biochemistry; volum 35, issue 12, pages 1705-1709 (December 2003).
- ROUSSOS S., RAIMAULT M., SAUCEDO-CASTANEDA G. , VINIEGRA-GONZALEZ, LONSANE B. K.** 1991- Kinetics and ratios of Carboxy-methyl Cellulase and filter paper activities of the cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum* on different substrates in solid state fermentation
Micol. Neotrop. Apl. 4 :19-40.
- SENEZ J.** 1968. - Microbiologie Générale. Doin Paris 592 pages
- SINEIRO J., DOMINGUEZ H., NUNEZ M. J., LEMA J. M.** 1997- Inhibition of cellulase activity by sunflower polyphenols
Biotechnology Letters, Vol.19, N°6 June 1997 pp. 521-524
- SLYTER LEONARD L.** 1986. - Ability of pH-Selected Mixed Ruminal Microbial Populations to Digest Fiber at Various pHs. Applied and Environmental Microbiology. pp.390-391 Vol.52 N°2
- SOLOVYEVA I. V., ANANJIN V. M., BOER A. V., OKUNER O. N.** 1997- The Controlled biosynthesis of Cellobiase by *Aspergillus* fungi. Process Biochemistry Vol.32 N°1(1997). pp. 21-28
- SOLTNER D.** 1988. - Les bases de la production végétale. Tome 1. Le Sol. Collection Sciences et Techniques Agricoles. 16^{ème} Edition
- STEFANOVA E. M., BELETSKAYA O. P., KULAEV I. S.** 1997- Characterization of two extracellular proteïnases from *Aspergillus terreus* and their role in the formation of low molecular weight Endoglucanase. Process Biochemistry Vol.32 N°8 (1997). pp. 685-689
- STERNBERG D., VIJAYAKUMAR P., REESE E. T.** 1996- β - Glucosidase : microbial production and effect on enzymatic hydrolysis of cellulose. Can. J. Microbiol. Vol. 23
- SUGIYAMA J., HAYASHI N., WADA M., OKANO T.** 1993- Morphology and Structure of Crystalline cellulose. Proceeding of the second TRICEL symposium on *Trichoderma reesei* Cellulases and other Hydrolases, 1993. Ed by P. Suominen & T. Reinikainen foundation for Biotechnical and Industrial fermentation Research 3(1993). 15-23
- SWADA T., NAKAMURA y., KOBAYASHI F., KUWAHARA M., WATANABE T., WATANABE T.** 1995- Effect of Fungal Pre-treatment and Steam Explosion Pre-treatment on Enzymatic Saccarification of Plant Biomass. Biotechnology and Bioengineering Vol.48 719-724 (1995).

- SZAKACS-DOBOZI, M., SZAKACS G., MEYER, D., KLAPPACH, G** 1985. - Enhancement of Enzymatic Degradation of Cellulose by application of Mixed Enzyme Systems of Different Fungal Origin. *Acta Biotechnol.* 5 1,27-33
- TABAK H.H., COOKE W. B.** 1968. - Growth and metabolism of fungi in an atmosphere of nitrogen
Mycologia 60, 115-140
- TEERI TUULA T.** 1997- Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases
TIBTECH may 1997 Vol. 15
- UP-DEGRAFF D. M.** 1969. - Semi-microdetermination of cellulose in biological materials
Annal. Biochem. 32 : pp.420-424.
- VAHERI P. MARJA, VAHERI MATTI E. O., VELI S. KAUPPINEN** 1979- Formation and Release of Cellulolytic Enzymes During Growth of *Trichoderma reesei* on Cellobiose and Glycerol
European J. Applied Microbiology and Biotechnology 8, 73-80 1979.
- VARNERO M. T.** 1974- Etude écologique de la dégradation et de l'humification des feuilles de hêtre (*Fagus silvatica*).
-Effect des conditions de l'incubation (Oxybiose et Anoxybiose) sur le bilan chimique
Rapport du 1^{er} Colloque international Nancy 1974.
Université de Nancy. Laboratoire de Botanique et de Microbiologie
- VLAEV D. S., DJEDJEVA G. RAYKOVSKA V., SCH-GERL K.** 1997- Cellulase Production by *Trichoderma sp* grown on corn fibre substrate
Process Biochemistry Vol.32 N°7 (1997). pp. 561-565
- WAKSMAN D.** 1926. : - Cellulose and its decomposition in the soil by micro-organisms.
Intervn. Soc. Of soil Sci., 2, p. 293
- WALKER L. P., WILSON D. B., IRWIN D. C., Mc QUIRE, PRICE M.** - Fragmentation of Cellulose by the major *Thermomonospora fusca* Cellulases *Trichoderma reesei* CBHI and their Mixtures
Biotechnology and Bioengineering Vol.40 1019-1026 (1992).
- WARD T. E.** 1985- Characterizing the aerobic and anaerobic microbial activities in surface and subsurface soils
Environmental Toxicology and Chemistry Vol.4 1985. pp 727- 737
- WHITE BRYAN A.** 1987. - Purification and Caractérisation of an Exo- β -1,4-Glucanase from *Ruminococcus flavefaciens* FD-1
J. Bacteriol. Vol.169, N° 10, pp.4581-4588
- WINOGRADSKY S.** 1949- Microbiologie du sol.
Problème et Méthodes. Masson et Cie 1949. Paris
- WINOGRADSKY S.** 1925. - Etude sur la microbiologie du sol.
Annales de l'institut Pasteur. Vol. 34 N° 4 Avril p. 353
- WINOGRADSKY S.** 1926. - Sur la décomposition de la cellulose dans le sol C. R. 183, P. 691
- WINOGRADSKY S.** 1927. - Recherches sur la dégradation de la cellulose dans le sol
C. R. 184., p. 493
- WINOGRADSKY S.** 1927. - Recherches sur l'oxydation. de la cellulose dans le sol
Ibidem 187., p326
- WOOD T. M., WILSON C. A.** 1995 - Studies on the capacity of the Cellulase of the anaerobic rumen fungus *Piromonas communis* P to degrade hydrogen bond-ordered cellulose
Appl. Microbiol Bioltechnol. (1995). 43 572-578

WOODWARD J., AFFHOLTER K. A., NOLES KANDY K., TROY NANCIE T., GASLIGHTWALA SHEREBANU F. - Does Cellobiohydrolase II Core Proteins from *Trichoderma reesei* disperse cellulose microfibrils
Enzymes Microb. Technol., 2002, Vol.14 August

YAMANOBE TAKASHI, MITSUBISHI YASUSHI, TAKASAK YOSHIYUKI - Isolation of Cellulolytic Enzyme Production Micro-organism, Culture Conditions and Some Properties of the Enzymes. Agric. Biol. Chem., 51 (1), 65-74.

YAZDI M. T., WOODWARD J. R., RADFORD A. 1987- Cellulase Production by *Neurospora crassa* The enzymes of complex and their regulation
Enzymes Microb. Technol., 1990. Vol.12 February

YOSHIGI N., CHIKANO T., KAMIMURA M. 1985- Production of Extracellular α -Amylose from *Bacillus cereus* NY-14*
J. Jpn. Soc. Starch Sci. Vol.32, N° 3 pp. 217-221 (1985).

YOSHIGI N., CHIKANO T., KAMIMURA M. - Purification and Propriétés of an Amylose from *Bacillus cereus* NY-14*
Agric. Biol. Chem., 49 (12), 3369-3376 1985.

ZEYER J. 1986- Rapid Microbial Mineralization of Toluene and 1,3 Dimethylbenzene in Absence of Molecular Oxygen
Applied and Environmental Microbiology Oct. pp. 944-947 Vol.52 N°4

7. Annexes

Annexes

Composition du milieu « A » liquide

Cellulose microcristalline.....	1
Sels minéraux	
(NH ₄) ₂ SO ₄	2
KH ₂ PO ₄	2
K ₂ HPO ₄	6
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0,05
FeSO ₄ .7H ₂ O.....	0,001
NaCl.....	0,05
Extrait de levure.....	0,05
Actidione.....	0,04

Composition de la solution nutritive (en g/l).

MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0,2
NaCl.....	0,1
CaCl ₂	0,02
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O.....	0,002
MnSO ₄ .H ₂ O.....	0,01
FeNaEDTA.....	1,64%(poids/volume)

pH : 7

Valeurs physico-chimiques du sol de Oued Smar

Humidité	15,02
pH	7,5
C/N	12,68
Texture	Argileuse (l'argile dépasse 50 %)*
Couleur	Entre brun et brun foncé*
Acide humiques	0,039
Acides fulviques	0,022
Sucres Hydrosolubles	2,02
Acidosolubles	0,39
Taux de matière organique	3,56
Stabilité structurale	Bonne $\log_{10} I_s = 1,09^*$
Calcaire	Presque dépourvu de calcaire total (= 01)*
Complexe absorbant	Faible C.E.C. entre 8,7 et 11,9 meqg/100g

* Meziani R.

Valeurs physico-chimiques de la matière organique utilisé

	Feuilles	Tiges
Humidité	13,4	7,0
pH	5,14	4,89
C/N	12,77	23,73
Matière organique (incinération)	3,84	7,83
Sucres totaux		
hydrosolubles	13,37	13,07 mg/g
acido-solubles	1,9	4,43 mg/g